



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E FÍSICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

SABRINA CRUZ DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE LEITES *IN NATURA* COMERCIALIZADOS NO
MUNICÍPIO DE AREIA/PB**

AREIA

2020

SABRINA CRUZ DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE LEITES *IN NATURA* COMERCIALIZADOS NO
MUNICÍPIO DE AREIA/PB**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharelado em Química da Universidade
Federal da Paraíba como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharela em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth Almeida Lafayette

Coorientadora: Profa. Dra. Yanna Carolina Ferreira Teles

AREIA

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S729a Souza, Sabrina Cruz de.

Avaliação da qualidade de leites in natura
comercializados no município de Areia/PB / Sabrina Cruz
de Souza. - Areia, 2020.

62 f. : il.

Orientação: Elizabeth Almeida Lafayette.

Coorientação: Yanna Caroline Ferreira Teles.

Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Bromatologia. 2. Controle de Qualidade. 3.
Legislação. 4. Segurança Alimentar. I. Lafayette,
Elizabeth Almeida. II. Teles, Yanna Caroline Ferreira.
III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

SABRINA CRUZ DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE LEITES *IN NATURA* COMERCIALIZADOS NO
MUNICÍPIO DE AREIA/PB**

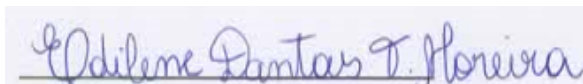
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Bacharelado em Química da Universidade
Federal da Paraíba como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharela em Química.

Aprovado em: 29/04/2020

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Elizabeth Almeida Lafayette (Orientadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Dra. Hellane Fabricia Sousa de Lucena (Examinadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profa. Dra. Edilene Dantas Teles Moreira (Examinadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha querida mãe Osvaldina (*in memorian*), que sonhou todos os meus sonhos comigo, fez o possível e impossível para que nunca me faltasse nada e sempre acreditou em mim quando nem eu mesma acreditei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder a vida, saúde, paciência, graça e força para chegar até aqui.

À minha amada mãe Osvaldina (*in memoriam*), por todo amor, carinho, esforço e dedicação. Por sempre incentivar meus estudos e nunca deixar eu desistir dos meus sonhos. Agradeço por todos os momentos lindos que tivemos juntas, te levo sempre em meu coração.

Ao meu pai Wilson, que mesmo com todas as suas dificuldades, acompanhou desde o início a minha jornada acadêmica e sempre esteve disposto a me ajudar realizar esse sonho. Sou grata por tudo que tens feito por mim.

À minha avó Hilda, por ser meu maior exemplo de força e superação. Por saber fazer o melhor bolinho de chuva, por ter o melhor abraço de conforto e acima de tudo por amar os seus netos incondicionalmente.

À minha tia Hildenes e ao seu marido Francisco, nenhuma palavra é capaz de explicar toda a gratidão que tenho por vocês. Por terem me adotado como filha e por cuidarem tão bem de mim.

Ao meu tio José, por incentivar meus estudos desde pequena. E a toda minha família: avô, primos e tios, obrigada pelo carinho que sempre tiveram comigo, Deus não poderia ter-me presenteado com uma família melhor. *Amo vocês!*

À minha amiga Joyce, sua mãe Maria Domingas e ao seu irmão Carlos Eduardo, obrigado por cuidarem de mim e por terem cuidado tão bem da minha mãe enquanto estive distante.

Ao meu namorado Tássio, por toda paciência, principalmente na reta final do curso. Obrigada por estar presente na minha vida, por toda ajuda, carinho, amizade, amor e companheirismo.

À minha madrinha Anita, sua irmã Suely e a minha amiga de infância Fabielle, obrigada pelos anos de amizade e por todo carinho que vocês têm comigo.

À minha família paraibana, minhas companheiras de casa Bárbara, Izabelly e Rosângela, obrigada por fazerem parte disso tudo, por dividirem suas famílias, suas vidas e seus sonhos. Obrigada por compartilharem tantos momentos comigo, ao longo desses cinco anos e pela amizade que construímos juntas. Às minhas novas companheiras de casa Rogéria e Larissa, obrigada pelas noites de conversas na cozinha, pelas risadas e pela amizade de vocês. Ao Guilherme, por estar presente nessa caminhada com todas nós desde o início.

À minha amiga Aline, por estar comigo em todos os momentos, por compartilhar a vida e ser meu refúgio nos momentos mais difíceis. Obrigada pela sua amizade, por todos os conselhos e nossas conversas.

À minha amiga Pamela e sua família, pelo carinho que tens por mim, por acompanhar desde 2013 essa minha trajetória, por me levar ao aeroporto na primeira vez que embarquei em busca da realização desse sonho.

À minha amiga Kayth e sua família, vocês são incríveis e serei eternamente grata por tudo o que já fizeram por mim e pela minha mãe. Não importa a distância, vocês sempre serão minha família do coração.

À minha orientadora Elizabeth, por me ensinar muito mais do que química, ter me ensinado sobre dedicação, confiança e comprometimento. Obrigada por todo auxílio, por todas as oportunidades que me deu em participar dos seus projetos e por ter aceitado o convite de orientar este trabalho.

Aos técnicos administrativos Hellane e Deydeby, minha eterna gratidão pela amizade, ajuda, puxões de orelha e momentos de descontração no laboratório. À Tereziana, que nos primeiros períodos nos salvou durante as aulas e provas práticas.

À professora Yanna, por contribuir como coorientadora neste trabalho.

À professora Edilene, por ter aceitado o convite de participar da minha banca e contribuir com o meu trabalho.

À professora Betania, por toda a sua dedicação aos alunos e por sempre estar disposta a nos ajudar.

A todos os docentes do Departamento de Química e Física (DQF) e Departamento de Ciências Fundamentais e Sociais (DCFS): Dayse, Renaldo, Sidney, Rufino, Arthur e Borja, obrigada por todos os ensinamentos e contribuições para a minha formação profissional.

Ao meu colega de curso Wallison, que sempre esteve ao meu lado, no estágio, nos projetos, nas aulas teóricas e práticas, nos relatórios e nas apresentações de seminários. Obrigada pela sua sincera amizade durante esse período.

Aos demais colegas de curso, que estiveram presentes em tantos momentos dessa caminhada: Vinicius, Paulinho, Geandson, Luciana, Vitoria, Juciara, Mirella, Quézia, Isadora e Vanessa. Obrigada por dividirem suas vidas e sonhos.

Ao meu amigo Diego, pelo suporte e ajuda nas análises desse trabalho.

“Quem me dera ao menos uma vez
Que o mais simples fosse visto
Como o mais importante
Mas nos deram espelhos e vimos um mundo doente”.
(Legião Urbana)

RESUMO

O leite é um componente alimentar nutritivo presente na alimentação de muitos brasileiros. A composição média de um litro de leite de vaca apresenta como componente mais abundante a água (87%). Os sólidos totais ou extrato seco total constituem cerca de 13% e englobam todos os componentes do leite, exceto a água, dividindo-se entre lactose, proteínas, lipídeos e minerais. A cadeia produtiva láctea é imprescindível para o agronegócio, sendo considerada como uma das principais, do ponto de vista econômico. Em relação ao ponto de vista social, é uma atividade importante para geração de emprego e renda, principalmente para os pequenos produtores rurais. Contudo, problemas associados à baixa segurança na produção e comercialização do leite *in natura*, fazem com que esse alimento seja pré-disposto à contaminação e adulterações, interferindo na qualidade e segurança do mesmo. Desse modo, o presente estudo teve como objetivo, avaliar a qualidade dos leites *in natura* produzidos e comercializados no município de Areia/PB, com base na Instrução Normativa 76/2018. As seis amostras avaliadas foram obtidas em diferentes estabelecimentos, e as análises realizadas nos laboratórios de Química Analítica e Química Orgânica, da Universidade Federal da Paraíba, no Centro de Ciências Agrárias, Campus II. Os resultados demonstram que para todas as amostras, pelo menos um parâmetro estava em desconformidade com a legislação. Em relação à pesquisa de substâncias fraudulentas, todas as amostras indicaram resultados negativos para os testes de identificação do amido, sacarose, bicarbonato de sódio, cloro e hipoclorito, peróxido de hidrogênio e formaldeído. Já na composição físico-química, somente as amostras B e E apresentaram valores satisfatórios para os parâmetros de densidade a 15°C, acidez em ácido láctico, estabilidade ao alizarol 72% e pH. A composição nutricional foi muito variada, sendo que apenas as amostras B e D atingiram os teores mínimos exigidos para as análises de lactose, gordura, EST, ESD e proteínas. Os testes microbiológicos qualitativos indicaram falhas no controle higiênico-sanitário durante o processamento dos leites, possivelmente na hora da ordenha, transporte ou armazenamento em recipientes e/ou temperaturas inadequadas. O presente trabalho enfatiza a importância dos estudos no controle de qualidade em alimentos e ressalta a necessidade de inspeções e fiscalizações para garantir a qualidade e segurança dos leites *in natura* comercializados na cidade de Areia/PB.

Palavras-chave: Bromatologia. Controle de Qualidade. Legislação. Segurança Alimentar.

ABSTRACT

Milk is a nutritious food component present in the diet of many Brazilians. The average composition of a liter of cow's milk has water as its most abundant component (87%). Total solids or total dry extract make up about 13% and comprise all components of milk, except water, divided into lactose, proteins, lipids and minerals. The dairy production chain is essential for agribusiness, being considered one of the main ones, from an economic point of view. Regarding the social point of view, it is an important activity for generating employment and income, mainly for small rural producers. However, problems associated with low safety in the production and commercialization of fresh milk, make this food prone to contamination and adulteration, interfering with its quality and safety. Thus, the present study aimed to assess the quality of fresh milk produced and marketed in the municipality of Areia/PB, based on Normative Instruction 76/2018. The six samples evaluated were obtained in different establishments, and the analyzes were carried out in the Analytical Chemistry and Organic Chemistry laboratories, at the Federal University of Paraíba, at the Center for Agricultural Sciences, Campus II. The results show that for all samples, at least one parameter was not in compliance with the legislation. Regarding the search for fraudulent substances, all samples indicated negative results for the tests to identify starch, sucrose, sodium bicarbonate, chlorine and hypochlorite, hydrogen peroxide and formaldehyde. In the physical-chemical composition, only samples B and E showed satisfactory values for density parameters at 15°C, acidity in lactic acid, stability to 72% alizarol and pH. The nutritional composition was very varied, with only samples B and D reaching the minimum levels required for the analysis of lactose, fat, EST, ESD and proteins. Qualitative microbiological tests indicated failures in hygienic-sanitary control during the processing of milks, possibly at the time of milking, transportation or storage in containers and / or inadequate temperatures. The present work emphasizes the importance of studies on food quality control and emphasizes the need for incisors and inspections to guarantee the quality and safety of fresh milk sold in the city of Areia/PB.

Keywords: Bromatology. Quality control. Legislation. Food Security.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Participação por categorias de produtos lácteos no valor de vendas em 2016	17
Figura 2. Representação da reação de redução do azul metileno para azul de leucometileno.	28
Figura 3. Representação da reação de oxidação do guaiacol em tetraguaiacol catalisada pela enzima peroxidase	28
Figura 4. Reação de neutralização do ácido láctico com solução de hidróxido de sódio	29
Figura 5. Teste de estabilidade ao alizarol 72% em amostra adulterada propositalmente. (B1) Leite normal. (B2) Leite ácido. (B3) Leite alcalino	30
Figura 6. Reações envolvidas na análise de proteínas.....	34
Figura 7. Estrutura química da lactose e dos monossacarídeos glicose e galactose.....	35
Figura 8. Reação de Lane-Eynon em amostras de leite.....	36
Figura 9. Reação do formaldeído com o ácido cromotrópico	37
Figura 10. Teste da lactofermentação após 24 horas de incubação. (A) amostra B. (B) amostra C. (C) amostra D.....	43
Figura 11. Teste de redutase após 5:30h. (A) Amostra D. (B) Amostra E. (C) Amostra F	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Testes utilizados para certificação da qualidade do leite recebido para pasteurização	20
Tabela 2. Temperaturas permitidas durante o processo de conservação do leite	21
Tabela 3. Parâmetros físico-químicos do leite in natura refrigerado.....	22
Tabela 4. Perfil microbiológico do leite em diferentes momentos da produção até a comercialização	24
Tabela 5. Caracterização do teste da lactofermentação	27
Tabela 6. Caracterização do teste de redutase	28
Tabela 7. Caracterização do teste de estabilidade ao alizarol 72%	31
Tabela 8. Preço do litro das amostras e embalagem na qual os leites são comercializados	40
Tabela 9. Características organolépticas observadas em cada amostra.....	41
Tabela 10. Resultados do teste da lactofermentação	42
Tabela 11. Resultados do teste da redutase com o tempo de formação do halo branco	44
Tabela 12. Resultados do teste da enzima peroxidase	45
Tabela 13. Aferição da temperatura das amostras no laboratório	46
Tabela 14. Resultados das análises de pH e estabilidade ao alizarol 72%	47
Tabela 15. Valores obtidos na análise da acidez em ácido láctico	48
Tabela 16. Valores obtidos na aferição da densidade relativa.....	48
Tabela 17. Valores obtidos nas análises dos teores de gordura, EST e ESD	49
Tabela 18. Valores obtidos nas análises dos teores de proteínas e lactose.....	51
Tabela 19. Resultados da pesquisa de substâncias fraudulentas.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CBT – Contagem Bacteriana Total

CCA – Centro de Ciências Agrárias

CCS – Contagem de Células Somáticas

DCFS – Departamento de Ciências Fundamentais e Sociais

DQF – Departamento de Química e Física

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ESD – Extrato Seco Desengordurado

EST – Extrato Seco Total

FAO – *Food and Agriculture Organization*

G – Gordura

g – gramas

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IEA – Instituto de Economia Agrícola

IN – Instrução Normativa

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MDIC – Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior

mL – mililitros

N – Normal

NMP – Número Mais Provável

n.º – Número

pH – Potencial Hidrogeniônico

PIB – Produto Interno Bruto

POP – Procedimento de Operação Padronizado

SBAN – Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição

UFC – Unidade Formadora de Colônias

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 Produtos lácteos de elevado consumo no Brasil.....	17
3.2 Importância social e econômica da cadeia produtiva láctea na região da Paraíba	18
3.3 Leite <i>in natura</i> e suas características.....	19
3.4 Controle de qualidade do leite <i>in natura</i>	20
3.4.1 Análise da qualidade físico-química	21
3.4.2 Análise da qualidade microbiológica.....	23
3.5 Tipos de adulterantes no leite	24
4 METODOLOGIA.....	26
4.1 Localização dos experimentos.....	26
4.2 Coleta e processamento das amostras	26
4.3 Parâmetros organolépticos.....	26
4.4 Análise da qualidade microbiológica – parâmetros qualitativos.....	27
4.4.1 Teste da lactofermentação	27
4.4.2 Teste de redutase ou prova do azul de metileno	27
4.4.3 Teste da enzima peroxidase	28
4.5 Parâmetros físico-químicos	29
4.5.1 Análise de pH.....	29
4.5.2 Densidade relativa a 15°C	29
4.5.3 Determinação de acidez em ácido láctico.....	29
4.5.4 Estabilidade ao alizarol 72%.....	30
4.6 Parâmetros nutricionais	31
4.6.1 Teor de sólidos totais e sólidos não gordurosos	31
4.6.2 Teor de gordura.....	32
4.6.3 Teor de proteínas.....	33
4.6.4 Teor de lactose anidra.....	35
4.7 Pesquisa de substâncias estranhas ou fraudulentas.....	36
4.7.1 Substâncias conservadoras e/ou inibidoras de crescimento microbiano	36

4.7.1.1 Identificação de peróxido de hidrogênio	36
4.7.1.2 Identificação de formaldeído	36
4.7.1.3 Identificação de cloro e hipocloritos	36
4.7.2 Pesquisa de reconstituintes de densidade.....	38
4.7.2.1 Identificação de amido	36
4.7.2.2 Identificação de sacarose	36
4.7.3 Substâncias redutoras de acidez	39
4.7.3.1 Identificação de bicarbonato de sódio	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	40
5.1 Investigação da venda de leites no comércio local	40
5.2 Características organolépticas.....	41
5.3 Análises microbiológicas – parâmetros qualitativos.....	42
5.4 Parâmetros físico-químicos	46
5.5 Parâmetros nutricionais	49
5.6 Pesquisa de substâncias fraudulentas	52
6 CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS	56
APÊNDICE A: Testes de: 1-A) Enzima peroxidase e 1-B) Alizarol 72%; 2-A) Acidez em ácido láctico e 2-B) Lactose anidra (Amostra E).....	62

1 INTRODUÇÃO

Os produtos lácteos estão inseridos na alimentação em muitos países do mundo, sendo consumidos regularmente por diversos grupos de consumidores de diferentes faixas etárias (ROZENBERG et al., 2016). Nesse contexto, o leite e seus derivados constituem um grupo de alimentos em destaque por apresentarem elevado teor nutricional, uma vez que, são fontes consideráveis de proteínas de alto valor biológico.

O leite constitui-se de um líquido branco, opalescente e homogêneo. A cor branca é resultante da dispersão da luz refletida pelas partículas de gordura, caseína e fosfato de cálcio (SCHIANO et al., 2017). Os leites são classificados conforme os sistemas de produção que, de acordo com as exigências remetem aos parâmetros microbiológicos, físico-químicos e organolépticos, que caracterizam a identidade e o tipo de leite (NERO et al., 2017).

De acordo com Tronco (2010), a composição média de um litro de leite de vaca apresenta como componente mais abundante a água (87%). Os sólidos totais ou extrato seco total constituem cerca de 13% e englobam todos os componentes do leite, exceto a água, dividindo-se entre 4 a 5% de lactose, 3% de proteínas, 3 a 4% de lipídeos e aproximadamente 0,9% de minerais. Além disso, o leite possui naturalmente imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento, citocinas, nucleotídeos, peptídeos, poliaminas, enzimas e outros peptídeos bioativos (PEREIRA, 2014).

Os componentes do leite permanecem em equilíbrio, de maneira que a relação entre eles é muito estável, contribuindo para manutenção da sua qualidade. Segundo Brito e colaboradores (2019), o conhecimento dessa estabilidade é a base para testes que são realizados com a finalidade de ressaltar a ocorrência de modificações na composição e qualidade do leite.

Alterações na composição do leite, nos aspectos físico-químicos e microbiológicos, estão associadas a uma série de fatores, como raça, genética e estágio de lactação do animal, manejo de ordenha, nutrição, uso de medicações nos animais, condições higiênico-sanitários e armazenamento, e a adição de substâncias fraudulentas (FEI et al., 2015).

As modificações no leite ocasionadas por micro-organismos podem ocorrer desde a sua obtenção até o seu consumo, em consequência da exposição desse alimento a influências de natureza físico-química e ao alto número de contaminações. Como os produtores de leite estão inseridos na cadeia de produção de alimentos, devem certificar-se quanto às boas práticas, segurança e qualidade do produto que produzem. Esses cuidados devem assegurar

que o leite e seus derivados apresentem-se seguros e adequados para o uso que se destinam (FAO, 2013).

Leite fraudado, adulterado ou falsificado é considerado quando há adição de água, subtração de qualquer um de seus componentes, adição de substâncias conservadoras ou de quaisquer elementos estranhos à sua composição (BRASIL, 1997). Em algumas regiões do país, segundo a Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição – SBAN (2015), os consumidores adotam a cultura e a preferência de ingerir leite *in natura* e fervê-lo ao invés de optar pelo leite pasteurizado, devido ao custo mais elevado.

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através de instruções normativas, regulamentam a produção, o transporte e o processamento do leite com o objetivo de adotar medidas que visem incentivar a melhoria da sua qualidade. A Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006, por exemplo, oficializa os métodos analíticos físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos (BRASIL, 2006), enquanto a IN 76/2018 aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite refrigerado (BRASIL, 2018).

Pensando na melhoria da qualidade do leite comercializado e na prevenção da saúde pública, criou-se o Decreto-lei nº 923, de 10 de outubro de 1969, que proíbe a venda de leite *in natura* para consumo direto da população, quando não atende as especificações de pasteurização, controle físico, químico e microbiológico, armazenamento e temperatura ideais (BRASIL, 2020). Entretanto, por motivos socioeconômicos, nos municípios onde a maior parte da população reside na zona rural, a venda e o consumo de leite *in natura* ocorrem frequentemente. Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar a qualidade dos leites *in natura* produzidos e comercializados no município de Areia/PB.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os parâmetros organolépticos, físico-químicos, nutricionais e indicativos de qualidade dos leites *in natura* produzidos e comercializados no município de Areia/PB.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar as condições de armazenamento e refrigeração nos locais de comercialização de leites *in natura*;
- Avaliar os parâmetros organolépticos do leite;
- Determinar as propriedades de pH, densidade, acidez em ácido láctico e estabilidade ao alizarol 72%;
- Investigar a qualidade nutricional através do teor de extrato seco total e desengordurado, teor de gordura, de proteínas e lactose;
- Averiguar a qualidade microbiológica das amostras de leites, por meio de testes qualitativos de redutase, lactofermentação e da enzima peroxidase;
- Pesquisar a presença de substâncias fraudulentas, tais como, amido, sacarose, formol, peróxido de hidrogênio, hipocloritos e bicarbonato de sódio;
- Certificar se os dados obtidos estão dentro dos valores estabelecidos pelas legislações vigentes.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

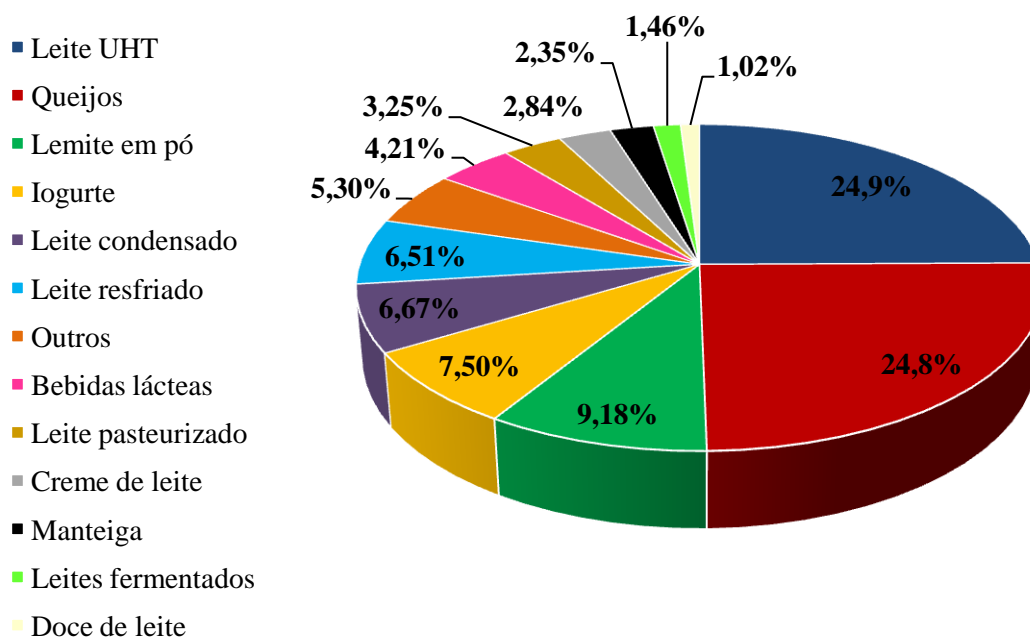
3.1 Produtos lácteos de elevado consumo no Brasil

A cadeia produtiva do leite é denominada de produtos lácteos, e a maioria desses produtos são intitulados concentrados, como é o caso do leite em pó e o queijo (ASSIS et al., 2016). No Brasil, o nível de consumo de lácteos ainda é mediano, contudo, ainda é superior ao de muitos países vizinhos. No ano de 2017, o brasileiro consumiu 175 equivalente kg de leite, o que corresponde a duas porções diárias de leite/pessoa/dia (SIQUEIRA, 2019).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura estima que, todos os dias, bilhões de pessoas consomem leite no mundo, nas suas mais diversas formas. O leite é um dos produtos mais versáteis da agroindústria de alimentos, pois além de ser consumido na sua forma *in natura*, também pode ser transformado em diversos tipos de produtos, que variam desde queijos e manteiga, até alimentos como iogurte, bebida láctea, leite condensado, leite fermentado e doce de leite (FAO, 2013).

De acordo com a Pesquisa Industrial Anual do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o derivado lácteo que apresentou o maior valor de vendas no setor em 2016 foi o leite UHT, seguido de perto pelos queijos (Figura 1).

Figura 1. Participação por categorias de produtos lácteos no valor de vendas em 2016.



Fonte: Adaptado de Siqueira, 2019.

3.2 Importância social e econômica da cadeia produtiva láctea na região da Paraíba

A cadeia produtiva láctea vem demonstrando um crescimento constante diante as atividades do agronegócio, sendo considerada como uma das principais, do ponto de vista econômico. Em relação ao ponto de vista social é uma atividade de grande importância na geração de emprego e renda, principalmente aos produtores rurais. Contudo, a cadeia produtiva do leite no Brasil tem sofrido instabilidades frequentes, devido às oscilações de mercado e de políticas econômicas (AZEVEDO, 2015).

De acordo com o Instituto de Economia Agrícola (IEA), no ano de 2014 o mercado mundial de leite enfrentou algumas dificuldades, que influenciaram significativamente os preços dos produtos lácteos. Apesar disso, no mesmo ano, o Brasil apresentou um mercado firme com crescimento da produção. Em contrapartida, o consumo dos mesmos produtos diminuiu devido às questões de ordem econômica do país, como desvalorização do dólar frente ao real e menor crescimento do PIB (Produto Interno Bruto).

A produção mundial de leite em 2010 foi de 695,7 bilhões de litros, onde o Brasil contribuiu com 4,42% ou 30,7 bilhões de litros (EMBRAPA, 2010). O cenário das exportações em 2014 foi favorável aos lácteos do país, aumentando seu faturamento com as exportações em 254,3% e o volume em 118,0%, em comparação ao ano de 2013, segundo os dados apresentados pelo Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC).

No período entre os anos de 2005 a 2013, o Nordeste brasileiro apresentou um forte crescimento na produção de leite, especialmente entre os anos de 2005 e 2010, em que o aumento foi de 25% quando comparado aos anos anteriores. Em relação, ao estado da Paraíba houve um crescimento de 105%, representando 5,4% da região Nordeste, contudo os índices técnicos e econômicos dos sistemas de produção de leite na região ainda são bem inferiores aos dos estados do Sul e Sudeste do país (SEBRAE, 2013).

Segundo o censo agropecuário 2017 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, dos 882 estabelecimentos agropecuários registrados no município de Areia, 112 produziram leite naquele ano, equivalendo a 882.221 litros de leite com o valor da produção estimada em R\$ 1.313.00,00 (IBGE, 2020).

Um estudo feito pelo Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE, sobre a realidade da atividade leiteira no nordeste apontou a necessidade de programas e ações que auxiliem o desenvolvimento da produção de leite, levando em consideração tanto a gestão do empreendimento como a aplicação de tecnologias viáveis e adaptadas para cada região (SEBRAE, 2013).

3.3 Leite *in natura* e suas características

O leite cru refrigerado e o leite pasteurizado recebem apenas as denominações resultantes do seu estado *in natura* (cru) ou já beneficiado (pasteurizado). Segundo a IN 76/2018, leite *in natura* é o leite produzido em propriedades rurais, refrigerado e destinado aos estabelecimentos de leite e derivados sob serviço de inspeção oficial. Já o leite pasteurizado é o leite fluido submetido a um dos processos de pasteurização previstos na legislação vigente, envasado automaticamente em circuito fechado e destinado a consumo humano direto (BRASIL, 2018).

Após a publicação da Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011 passou-se a considerar dois tipos de leites *in natura*, e estes possuíam parâmetros de identidade e qualidade distintos. O leite *in natura* tipo A é o leite obtido em estabelecimentos denominados granja leiteira, contudo o anexo I da mesma Instrução Normativa, não dispõe dessa definição para esse tipo de leite, pois o mesmo não é considerado uma matéria prima susceptível de comercialização e, por isso, define-se apenas o leite pasteurizado tipo A (NERO et al., 2017).

De acordo com a IN 62/2011 o leite *in natura* deve ser obtido em propriedades rurais, refrigerado em tanques de expansão ou tanques de imersão, transportado em carro-tanque isotérmico da propriedade rural até o local de processamento. Esse tipo de leite é destinado à obtenção do leite pasteurizado para consumo humano direto ou para produção de derivados lácteos (BRASIL, 2011).

Atualmente a Instrução Normativa nº 76, de 26 de dezembro de 2018 estabelece o regulamento das condições de armazenamento e refrigeração do leite *in natura*, além de instituir as características sensoriais e os parâmetros físico-químicos que designa um leite de qualidade para consumo (BRASIL, 2018). Diversos casos de doenças transmitidas através do leite *in natura* foram diagnosticados em crianças após visitas às fazendas, induzido pelo falso contexto de “alimento saudável”, alimentando-se de forma inadequada e sem os mínimos cuidados de manejo (WHO, 2000).

A regulamentação aliada à crescente percepção da população, a respeito do papel exercido pelos alimentos e seus componentes sobre a saúde do consumidor, torna o mercado cada vez mais exigente (ROSA et al., 2012). As exigências, por sua vez, podem induzir na busca por meios de adulterações, com objetivo de mascarar a má qualidade do leite e, consequentemente, aumentar os lucros na venda. Falhas no controle realizado pela indústria ou produtor e a falta de determinação legal para leite pasteurizado ou UHT (*Ultra High Temperature*) expõe o consumidor ao produto adulterado (MAREZE et al., 2015).

3.4 Controle de qualidade do leite *in natura*

A qualidade é um dos temas mais abordados nos dias atuais, dentro do cenário nacional da produção leiteira, sendo considerado o somatório de vários fatores, entre os quais a estabilidade físico-química e microbiológica. A pesquisa de fraudes segundo o MAPA é obrigatória somente para o leite *in natura*, apesar disso, independentemente do tipo de leite a ser produzido é proibido qualquer tipo de adulteração da matéria prima, seja na propriedade rural ou indústria (BRASIL, 2011).

Determinações estabelecidas por instruções normativas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), instituem as orientações para o controle de qualidade e incentiva os produtores na melhoria da qualidade do leite produzido. Nesse aspecto, o Instituto Adolfo Lutz (2008) também evidencia técnicas instrumentais, baseados em princípios físicos e químicos, eficazes e que atendem às novas exigências legais para analisar a qualidade e segurança dos alimentos.

Os resultados encontrados por Lampugnani e colaboradores (2018) na avaliação do perfil tecnológico e a qualidade do leite cru refrigerado produzido em 50 unidades produtoras de leite, constituídas de propriedades rurais de pequeno, médio ou grande porte localizados na mesorregião oeste paranaense, região sul do Brasil, indicaram que a maioria das unidades produtoras de leite cru avaliadas não se enquadra aos padrões mínimos de qualidade exigidos pela legislação.

Em 2018, o MAPA dispôs de novas regras para a produção de leite no país, especificando os padrões de identidade e qualidade do leite cru refrigerado, pasteurizado e do pasteurizado tipo A (Tabela 1). Tais mudanças entraram em vigor em 2019 e encontram-se nas Instruções Normativas 76 e 77. Já na Instrução Normativa 78, são definidos os critérios a serem seguidos nas provas de produção.

Tabela 1. Testes utilizados para certificação da qualidade do leite recebido para pasteurização.

Análises diárias	Análises mensais
Temperatura (exceto para latões entregues sem refrigeração)	Teor de gordura
Teste do álcool/alizarol na concentração mínima de 72% v/v	Teor de proteína total
Acidez titulável	Teor de lactose anidra
Índice crioscópico	Teor de sólidos não gordurosos
Densidade relativa a 15°C	Teor de sólidos totais

Teor de gordura, sólidos totais e não gordurosos	Contagem de células somáticas
Pesquisas de reconstituintes de densidade ou do índice crioscópico	-
Pesquisas de substâncias conservadoras	-
Pesquisa de resíduos de antibióticos (ABT)	-

Fonte: Adaptado de IN 76/2018.

De acordo com Dias e Antes (2014), a qualidade do leite é avaliada por parâmetros relacionados à composição (gordura, proteína, extrato seco desengordurado), parâmetros físico-químicos (estabilidade ao alizarol, acidez titulável, densidade relativa), padrões higiênico-sanitários (contagem total bacteriana, contagem de células somáticas, detecção de resíduos de antibióticos) e pesquisa de substâncias fraudulentas.

O desenvolvimento de técnicas para monitoramento da qualidade do leite, associados aos conhecimentos de pesquisadores e à legislação, possibilitaram o produtor diminuir perdas e melhorar a qualidade no processamento e produtos ofertados (VILELA et al., 2017). No entanto, algumas provas para detecção de fraudes não são de fácil execução ou realização rápida, por estes e outros motivos, diversas fraudes não são perceptíveis e boa parte do leite fraudado acaba chegando aos consumidores (MAREZE et al., 2015).

3.4.1 Análise da qualidade físico-química

Os processos convencionais de pasteurização térmica são as principais técnicas empregadas para garantir a segurança microbiológica dos produtos lácteos (COUTINHO et al., 2019). Além disso, a temperatura máxima de conservação do leite é de 7°C, nas propriedades rurais ou em tanques coletivos, enquanto, nos estabelecimentos, a temperatura deve ser de no máximo 9°C (Tabela 2).

Tabela 2. Temperaturas permitidas durante o processo de conservação do leite.

Tipo de acondicionamento	Temperatura
Conservação e expedição do leite no posto de refrigeração	4°C
Recebimento no estabelecimento	7°C
Conservação na usina de beneficiamento ou fábrica de laticínios antes da pasteurização	4°C

Fonte: Adaptado de IN 76/2018.

A Instrução Normativa 76/2018 determina que o leite *in natura* refrigerado deva atender às seguintes características sensoriais: líquido branco opalescente, homogêneo, e odor característico. Já os parâmetros físico-químicos devem apresentar os teores expostos na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos do leite *in natura* refrigerado.

Parâmetros	Limites
Teor de gordura	mínimo de 3,0g/100g
Teor de proteína	mínimo de 2,9g/100g
Teor de lactose anidra	mínimo de 4,3g/100g
Sólidos não gordurosos	mínimo de 8,4g/100g
Sólidos totais	mínimo de 11,4g/100g
Acidez titulável	0,14 a 0,18g de ácido láctico/100ml
Estabilidade ao alizarol	mínimo de 72% v/v
Densidade relativa a 15°C	1,028 a 1,034
Índice crioscópico	-0,530°H e -0,555°H ou entre -0,512°C e -0,536°C

Fonte: Adaptado de IN 76/2018.

Melo e colaboradores (2018), analisaram a qualidade do leite cru refrigerado obtido em propriedades rurais localizadas na Microrregião do Brejo e Curimataú, Estado da Paraíba. Por meio da avaliação físico-química, os autores constataram que apenas uma amostra de leite cru estava em desacordo com os padrões que a legislação determina para todos os parâmetros que foram avaliados.

Por outro lado, Mareze e colaboradores (2015) identificaram 16 amostras de leite pasteurizado com irregularidade em pelo menos uma análise dos padrões físico-químicos estabelecidos pela legislação, sendo que quatro apresentaram alterações em duas ou mais análises. No mesmo estudo, os autores detectaram a presença de substâncias fraudulentas em sete, do total de 80 amostras analisadas e produzidos em laticínios da região norte do Paraná. A maioria das infrações encontradas foi quanto ao teor de gordura, das quais dez amostras estavam fora do padrão exigido, abaixo do mínimo de 3%.

Segundo o MAPA (2018), o leite *in natura* também não deve apresentar substâncias estranhas à sua composição, tais como agentes inibidores do crescimento microbiano, neutralizantes da acidez e reconstituintes da densidade ou do índice crioscópico. Além disso,

os produtores devem atentar-se quanto aos limites máximos de resíduos de produtos de uso veterinário e contaminantes previstos em normas complementares.

3.4.2 Análise da qualidade microbiológica

O crescimento elevado de microrganismos no leite altera o seu valor do pH, conteúdo iônico, odor, cor, viscosidade e outros parâmetros físico-químicos, assim como os constituintes nutricionais (POGHOSSIAN et al., 2019), colocando em risco a saúde do consumidor. O transporte e armazenamento do leite em condições fora do estabelecido também contribuem para o processo de deterioração.

A temperatura de armazenamento é um dos principais fatores que auxiliam na multiplicação dos microrganismos, visto que, o leite é um alimento rico em umidade e nutrientes. Dessa forma, é preciso que a temperatura se mantenha entre 4°C a 9°C para minimizar a deterioração do leite pela ação bacteriana. O armazenamento em temperaturas elevadas, entre 25 a 30°C, facilita a proliferação de microrganismos *Streptococcus* e coliformes totais, promovendo a acidificação do leite devido à concentração de ácido láctico, decorrente da fermentação da lactose (COUTO et al., 2018).

A Instrução Normativa 51/2002, estabelece como provas de qualidade do leite *in natura*, além da contagem padrão em placas, os testes qualitativos por meio da redução de corantes. A prova da redução do azul de metileno, conhecida como TRAM, baseia-se na descoloração do corante, que atua como receptor de íons H⁺ resultantes da ação desidrogenase (redutase) do metabolismo microbiano (TRONCO, 2010).

Embora a técnica não seja exigida pelas legislações vigentes, algumas indústrias ainda realizam esse tipo de ensaio como controle microbiológico devido ao baixo custo e a simplicidade do procedimento analítico (PEREIRA et al. 2012). Outro ensaio, que também permite avaliar o grupo de bactérias predominantes no leite, é o teste da lactofermentação. Essa análise estima qualitativamente a microbiota do leite, tendo como base os aspectos do coágulo formado após o período de 24 horas de incubação (BEHMER, 1999).

Segundo a IN 76/2018 o leite *in natura* refrigerado deve apresentar médias geométricas trimestrais de Contagem Padrão em Placas de no máximo 300.000 UFC/mL e de Contagem de Células Somáticas de no máximo 500.000 CS/mL (BRASIL, 20018). No caso do leite pasteurizado, logo após ao processo de pasteurização o produto deve apresentar teste negativo para fosfatase alcalina, teste positivo para peroxidase e coliformes a 30-35°C menor que 0,3 NMP/ml (BRASIL, 2011).

Motta e colaboradores (2015) investigaram os indicadores de qualidade e composição do leite informal comercializado na região Sudeste do Estado de São Paulo. Dentre os parâmetros utilizados na avaliação da qualidade do leite, os autores destacaram a contagem de células somáticas, onde foi verificado que 77% das amostras de leite informal na região estudada estavam em desacordo com os valores máximos de CCS exigidos pela IN 62/2011.

Tabela 4. Perfil microbiológico do leite em diferentes momentos da produção até a comercialização.

Etapas do processamento e tipo de leite	Limites	
	CBT	CCS
Recebimento no estabelecimento	300.000 UFC/ml	500.000 CS/MI
Antes do beneficiamento	900.000 UFC/ml	500.000 CS/MI
Leite tipo A	10.000 UFC/ml	500.000 CS/MI
Leites já beneficiados	5 UFC/mL*	-

*contagem máxima de enterobactérias.

Fonte: Adaptado de IN 76/2018.

De acordo com Melo e colaboradores (2013), a CBT do leite, está diretamente relacionada com a qualidade higiênico-sanitário do leite e derivados. Em seu estudo na avaliação da qualidade do leite cru tipo C, ainda de acordo com a antiga classificação para leite, segundo a Instrução Normativa nº 51/2002, os resultados de CBT encontrados foram muito elevados, cerca de 16.170 mil UFC/mL a 15.630 mil UFC/mL, estando acima do recomendado pela legislação.

3.5 Tipos de adulterantes no leite

O teor nutricional do leite determina o seu valor industrial, visto que, uma maior quantidade de gorduras e proteínas garante maior rendimento na produção de derivados lácteos. O componente lipídico do leite é constituído, principalmente, por triglicerídeos (98%), enquanto a composição proteica apresenta a caseína (85%) como proteína láctea mais abundante (BRASIL, 2011).

Modificações no leite podem ser percebidas através de aspectos como presença de grumos, leite filamentosos, material estranho em suspensão e/ou depositados no fundo dos recipientes e alterações características da coloração (BRASIL, 2011). De acordo com Kartheek e colaboradores (2011), substâncias conservantes (peróxido de hidrogênio),

neutralizantes (hidróxido de sódio e bicarbonato de sódio) e reconstituintes da densidade (sal, açúcar e amido) são tipos de adulterações que foram surgindo ao longo do tempo.

Outros produtos químicos, considerados agentes inibidores do crescimento microbiano e conservantes são adicionados, fraudulentamente, para retardar o crescimento de microrganismos ou a ação de enzimas a fim de aumentar o tempo de conservação do leite, o que pode causar efeitos adversos sérios a saúde (ARAÚJO et al., 2015). Os principais inibidores adicionados são: formaldeído, peróxido de hidrogênio, ácido bórico, ácido salicílico, hipocloritos, ácido benzóico e sulfitos.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), fraudes no leite por adição de substâncias químicas, como ureia e formaldeído, além de mascarar a quantidade de nutrientes presentes no alimento, são causas de intoxicação para seres humanos (ANVISA, 2013). A adição de alcalinos, conservantes e/ou a presença de resíduos de antibióticos alteram a constituição do leite e podem desencadear reações de hipersensibilidade até choque anafilático e efeitos toxico-farmacológicos (ABRANTES et al., 2014).

Molina e colaboradores (2015) detectaram resultados positivos para neutralizantes de acidez e urina no leite cru comercializado informalmente no município de Itaqui-RS. Os autores fundamentaram a presença de urina, como resíduo da função fisiológica da vaca, visto que, comumente o animal ruminante urina no momento da ordenha, com isso parte do líquido pode escorrer para os tetos ou respingar nos utensílios utilizados para coleta, contaminando o leite.

Já os estudos realizados por Fernandes e Maricato (2010) demonstraram resultados negativos para os testes de fraudes, garantindo a boa qualidade da matéria prima. Os pesquisadores fundamentam os resultados através das parcerias realizadas com os produtores e empresas de laticínios, o que contribui na manutenção da boa qualidade do produto e reforça ainda mais a importância do controle de qualidade, das normas de higiene e condições de refrigeração durante a produção, processamento e armazenamento do leite.

4 METODOLOGIA

4.1 Localização dos experimentos

Os experimentos e as análises de controle de qualidade das amostras foram realizados nos Laboratórios de Química Orgânica e Química Analítica, pertencentes ao Departamento de Química e Física (DQF) do Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Areia/PB.

4.2 Coleta e processamento das amostras

As amostras utilizadas para experimentação foram coletadas nos estabelecimentos do município de Areia/PB, que comercializam leites *in natura*. A amostragem deu-se da mesma forma que chega ao consumidor final, no momento da coleta foi registrada a data, horário, preço do litro, tipo de embalagem na qual o leite é vendido e observado as disposições da embalagem, assim como, as instalações de armazenamento e conservação.

Os leites foram codificados como A, B, C, D, E e F e o transporte até o laboratório não ultrapassou o tempo de cinco minutos. As amostras A, B, E e F foram vendidas em temperatura ambiente, dessa forma, não foi feita a refrigeração na etapa de transporte. Já as amostras C e D, estavam refrigeradas quando comercializadas, com isso, tomou-se o cuidado para que o material chegasse o mais rápido possível ao laboratório.

Após a identificação das amostras, foram procedidas as análises dos parâmetros físico-químicos, organolépticos e indicativos da qualidade. Primeiramente foi feita a medição da temperatura, seguido dos testes microbiológicos qualitativos, análise de pH e densidade relativa. As amostras foram mantidas sob refrigeração até o término de todas as análises, que sucedeu-se em três dias.

Todas as amostras foram analisadas em triplicata, sendo reportados a média \pm desvio padrão para as análises físico-químicas e controle nutricional. Além dos parâmetros exigidos pela Instrução Normativa N°76, de 26 de novembro de 2018, foram realizadas outras análises, como o teste de redutase e lactofermentação, a fim de contribuir para a avaliação da qualidade do leite.

4.3 Parâmetros organolépticos

As características organolépticas foram averiguadas de acordo com o padrão de um leite de qualidade estabelecido pela IN 76/2018, em que foi observado se as amostras

apresentavam odor característico e aspecto de líquido branco opalescente homogêneo (BRASIL, 2018).

4.4 Análise da qualidade microbiológica – parâmetros qualitativos

4.4.1 Teste da lactofermentação

O teste da lactofermentação é uma análise que auxilia na identificação do microrganismo predominante no leite. Cerca de 10 mL da amostra foram transferidos para tubos de ensaio limpos, tampados e incubados a 37°C por 24 horas (BEHMER, 1999). Após o período de incubação, foi analisado o aspecto do coágulo formado abaixo da linha do creme e interpretado conforme as características dispostas na Tabela 5.

Tabela 5. Caracterização do teste da lactofermentação.

Tipo de coágulo	Aspecto	Microrganismos predominantes
Gelatinoso	sem soro, firme, uniforme e sem bolhas	bactérias ácido lácticas
Esponjoso	formação de bolhas de gás por todo coágulo	bactérias coliformes
Digerido	intensa formação de soro e encolhimento do coágulo	bactérias psicrotróficas proteolíticas
Sem coágulo	formação da linha de creme, homogênea e líquida	Indicativo de alguma substância inibidora

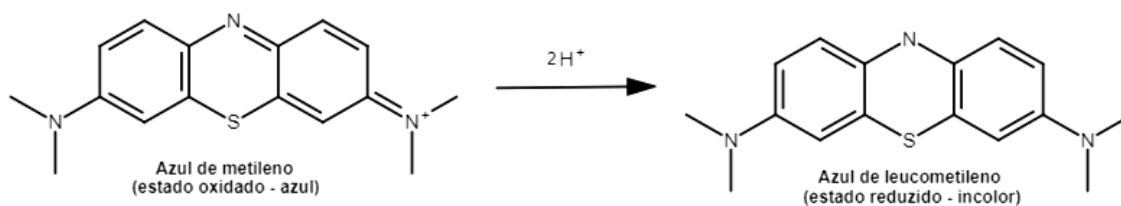
Fonte: Adaptado de Behmer, 1999.

4.4.2 Teste de redutase ou prova do azul de metileno

O teste de redutase foi realizado por meio da mistura de 20 mL da amostra do leite com 0,5 mL de azul de metileno 2,5%, em tubos de ensaios limpos, tampados e incubados em banho-maria a 37°C. O resultado é dado em horas, de modo que o tempo de redução do corante de azul para branco (Figura 2) é inversamente proporcional ao número de bactérias presentes no leite (TRONCO, 2010).

Quanto maior o número de bactérias presentes na amostra, mais rapidamente se dará a redução do corante para sua leucobase, tornando-o branco. A primeira observação é feita 30 minutos após o início da análise e as outras observações de 60 em 60 minutos. A cada observação os tubos 80% descorados são retirados do banho-maria e anotados seu tempo. De acordo com a Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002, para um leite de boa qualidade o tempo mínimo é de 03h30min. (três horas e trinta minutos).

Figura 2. Representação da reação de redução do azul metileno para azul de leucometileno.



Fonte: Adaptado de Tronco, 2010.

Tabela 6. Caracterização do teste de redutase.

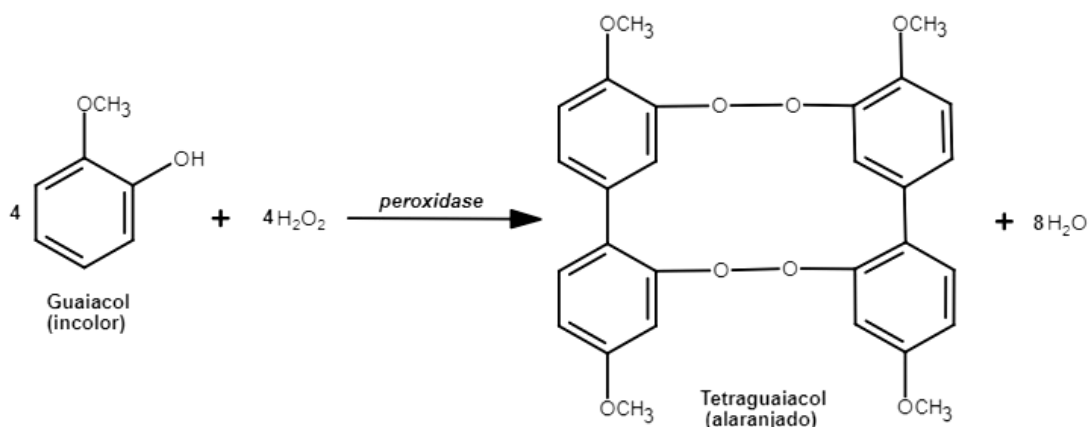
Tipo de leite	Classificação	Tempo
Leite X	muito boa qualidade	mínimo 5:30h
Leite Y	qualidade satisfatória	mínimo 3:30h
Leite Z	Indícios de contaminação	mínimo 1:30h

Fonte: Adaptado de Brasil, 2002.

4.4.3 Teste da enzima peroxidase

Para verificar a atividade da enzima peroxidase, transferiu-se 10 mL de cada amostra para um tubo de ensaio separadamente, em seguida os tubos foram levados ao banho-maria por cinco minutos a 45°C. Adicionou-se 2 mL da solução de guaiacol e três gotas de água oxigenada. O resultado positivo é dado pela formação de um halo de coloração salmão (Figura 3) em até cinco minutos (MAPA, 2017).

Figura 3. Representação da reação de oxidação do guaiacol em tetraguaiacol catalisada pela enzima peroxidase.



Fonte: Adaptado de MAPA, 2012.

A enzima peroxidase, ao hidrolisar o peróxido de hidrogênio, libera oxigênio, o qual transformará o guaiacol da sua leucobase para a forma corada.

4.5 Parâmetros físico-químicos

4.5.1 Análise de pH

Para a medição do pH, utilizou-se um pHmetro (potenciômetro) devidamente calibrado segundo o próprio Procedimento de Operação Padronizado (POP) do equipamento. A amostra líquida foi conduzida diretamente ao equipamento, por meio de 50 mL de leite sem diluição e a leitura deu-se com as amostras em temperatura ambiente.

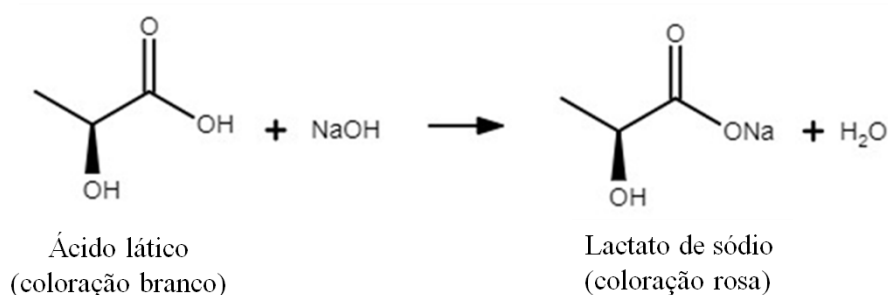
4.5.2 Densidade relativa a 15°C

A densidade relativa foi analisada transferindo-se 250 mL da amostra para uma proveta. Introduziu-se lentamente o termolactodensímetro e a sua leitura realizada ao nível do leite, no menisco superior (MAPA, 2013a). O resultado foi corrigido e expresso na temperatura das amostras, que variou de 13°C a 28°C, seguindo os dados da tabela apresentado pelo fabricante do instrumento.

4.5.3 Determinação de acidez em ácido láctico

O estado de conservação do leite é indicado através da sua acidez, visto que, uma acidez alta é resultado da acidificação da lactose provocada por microrganismos em multiplicação no leite. A acidez em ácido láctico foi determinada de acordo com a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), que baseia-se na titulação de 10 mL da amostra contendo cinco gotas de fenolftaleína, com uma solução de hidróxido de sódio 0,1N padronizado, até surgimento de coloração rósea persistente (Figura 4).

Figura 4. Reação de neutralização do ácido láctico com solução de hidróxido de sódio.



Fonte: Adaptado de Tronco, 2010.

O valor da acidez em gramas de ácido láctico foi obtido por meio da Equação 1, estabelecida pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

$$\text{Acidez em ácido láctico} = \frac{V \times f \times 0,9}{A} \quad (1)$$

Onde:

V = volume de solução de NaOH 0,1 N gasto na titulação;

A = volume da amostra;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1N;

0,9 = fator de conversão do ácido láctico.

4.5.4 Estabilidade ao alizarol 72%

O teste foi conduzido com o uso de uma solução saturada de alizarina, preparada em álcool 72% (v/v). A amostra foi homogeneizada e volumes iguais da solução de alizarol e de leite foram misturados em tubos de ensaio (BRASIL, 2006). A leitura do teste deu-se pela observação da coloração da mistura (Figura 5), pela presença ou não de coagulação ou formação de grumos (Tabela 7).

Figura 5. Teste de estabilidade ao alizarol 72% em amostra adulterada propositalmente. **(B1)** Leite normal. **(B2)** Leite ácido. **(B3)** Leite alcalino.



Fonte: Própria.

Tabela 7. Caracterização do teste de estabilidade ao alizarol 72%.

Tipo de leite	Coloração	Aspecto
Leite normal	vermelho tijolo	paredes do tubo de ensaio com ligeira precipitação; poucos grumos finos
Leite ácido	marrom claro à amarelo	tendência a um esmaecimento da cor com formação de grumos grandes
Leite alcalino	lilás à violeta	não há formação de grumos ou precipitados

Fonte: Adaptado de Brasil, 2006.

4.6 Parâmetros nutricionais

4.6.1 Teor de sólidos totais e sólidos não gordurosos

A determinação de sólidos totais foi realizada através do método de ensaio gravimétrico emitido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2014a). As cápsulas foram pré-aquecidas com 5g da amostra de leite em banho-maria por 30 minutos, até formação de um filme de coloração leitosa. Posteriormente, foram colocadas em estufa a 105°C até peso constante entre as pesagens e o teor expresso a partir da Equação 2, estabelecida pelo MAPA (2014a).

$$\text{Extrato seco total (EST)} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

m_0 = massa da cápsula;

m_1 = massa da cápsula e amostra;

m_2 = massa da cápsula e amostra seca.

O teor de sólidos não gordurosos foi calculado mediante os valores médios encontrados de teor de sólidos totais e teor de gordura. O resultado foi expresso a partir da Equação 3, disponível no método de ensaio emitido pelo próprio MAPA (2014a).

$$\text{Extrato seco desengordurado (ESD)} = \text{EST} - G \quad (3)$$

Onde:

EST = percentual de extrato seco total;

G = percentual de gordura.

4.6.2 Teor de gordura

O teor de gordura foi determinado a partir do método de Bligh Dyer (1959), que consiste na extração a frio utilizando solventes orgânicos (clorofórmio e metanol) e água, seguido da adição de sulfato de sódio anidro e filtração.

Inicialmente foram pesados em erlenmeyers, aproximadamente 3g da amostra homogeneizada e resfriada. Adicionou-se exatamente 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada, tampou-se os erlenmeyers com duas camadas de papel filme e levou para mesa agitadora (velocidade 2) por 30 minutos.

Posteriormente, adicionou-se mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5 %. Tampou-se novamente os erlenmeyers com duas camadas de papel filme e levou para mesa agitadora (velocidade 2) por 2 minutos. Em seguida, transferiu-se a amostra para o funil de separação e aguardou-se a separação de fases naturalmente. Após o tempo de separação, foi retirado em torno de 15 mL da camada inferior, adicionou-se aproximadamente 2g de sulfato de sódio anidro (secante) e agitou para remover resquícios de água.

Filtrou-se a camada contendo o clorofórmio em papel de filtro, recebendo o filtrado em um recipiente de vidro. Transferiu-se 5 mL do material filtrado para cápsulas de porcelana previamente aquecidas em estufa por duas horas e pesadas. O solvente foi evaporado em estufa a 105°C por 30 minutos e o teor de gordura obtido a partir da Equação 4, disponível na página 32 da referência Forchetti, 2013.

$$\text{Teor de gordura} = \frac{V_c \times m_f \times 100}{m_i \times V_p} \quad (4)$$

Onde:

V_c = volume de clorofórmio;

m_f = massa de gordura pesada após evaporação do solvente;

m_i = massa da amostra pesada inicialmente;

V_p = volume pipetado do material filtrado.

4.6.3 Teor de proteínas

O principal componente presente na fração proteica do leite é a caseína, perfazendo cerca de 80% do total das proteínas presentes no alimento. A determinação do teor de proteínas no leite foi procedida através do método de Kjeldahl (MAPA, 2013b), que baseia-se na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio através da digestão com ácido sulfúrico e posterior destilação com liberação da amônia, que é fixada em solução ácida e titulada.

Na etapa de digestão, pesou-se 2g da amostra nos tubos de Kjeldahl, adicionou-se 2,5g de uma mistura catalítica composta de sulfato de sódio anidro p.a e sulfato de cobre p.a, na proporção de (10:1), com a finalidade de aumentar a temperatura de ebulição do ácido e a velocidade de oxidação da matéria orgânica. Em seguida, pipetou-se 7 mL de ácido sulfúrico p.a e levou-se os tubos para aquecimento em um bloco digestor. A princípio a temperatura inicial foi em torno de 120°C, logo após, aumentou-se para 250°C (em torno de 30 minutos) elevando gradativamente para 450°C até que o líquido estivesse límpido e transparente, com tonalidade azul-esverdeada.

Durante a digestão, o carbono que compõe as moléculas presentes no leite é transformado em dióxido de carbono (CO_2), o hidrogênio em água (H_2O) e o nitrogênio das proteínas reduzido e convertido em sulfato de amônio, conforme apresentado na Figura 6.

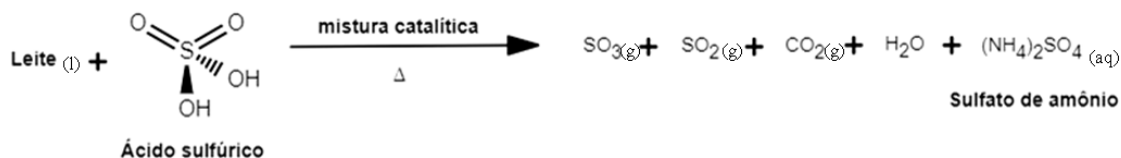
A segunda etapa da análise consiste em transformar o nitrogênio presente na solução na forma de sulfato de amônio (NH_4^+) para amônia (NH_3) gasosa. Acoplou-se então ao destilador um erlenmeyer contendo cerca de 20 mL de solução de ácido bórico a 4% e cinco gotas de solução de indicador misto preparado com a mistura de vermelho de metila e verde de bromocresol.

Adaptou-se o tubo de Kjeldahl ao destilador e adicionou-se lentamente, em torno de 25 mL, solução de hidróxido de sódio 50% até que a mesma tornou-se negra. Procedeu-se à destilação seguindo o POP do equipamento, até recolher aproximadamente 75 mL do material destilado. A adição do hidróxido de sódio concentrado e o aquecimento promovem a liberação da amônia que é separada da mistura por destilação. O gás amônio então reage com a solução de ácido bórico, formando o borato de amônio (Figura 6).

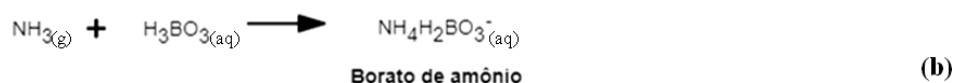
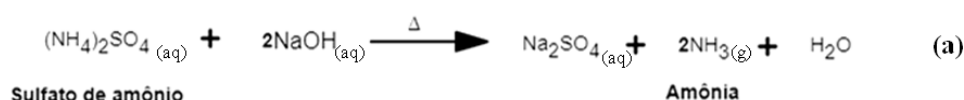
Por último, titulou-se material destilado com solução de ácido sulfúrico 0,1N até a viragem do indicador de coloração verde à leve tom róseo - avermelhado. Nessa etapa, o borato de amônio reage com o ácido sulfúrico, formando o ácido bórico e novamente o sulfato de amônio.

Figura 6. Reações envolvidas na análise de proteínas.

Etapa 1 - Reação envolvida durante o processo de digestão da amostra.



Etapa 2 - Reações envolvidas na destilação da amostra digerida.



Etapa 3 - Reação envolvida na titulação da amostra destilada.



Fonte: Adaptado de MAPA, 2013b.

A porcentagem do teor de nitrogênio total foi calculada de acordo com a equação disponibilizada pelo MAPA (2013b), utilizando-se o volume da solução de ácido sulfúrico gasto na titulação, além do fator de correção da solução de ácido sulfúrico 0,1 N (Equação 5).

$$\text{Teor de nitrogênio total} = \frac{V \times N \times 0,014}{m} \times 100 \quad (5)$$

Onde:

V = volume da solução de H₂SO₄ gasto na titulação;

N = normalidade da solução de H₂SO₄;

0,014 = fator de correção da solução de H₂SO₄;

m = massa da amostra.

O método de Kjeldahl quantifica o nitrogênio total da amostra, para que seja obtido o teor de proteínas, aplica-se um fator de conversão Kjeldahl para amostra de leite, conforme Equação 6 disponível na referência MAPA, 2013b.

$$\text{Teor de proteínas} = \text{nitrogênio total} \times F \quad (6)$$

Onde:

F = 6,38 - fator de conversão da relação nitrogênio/proteína.

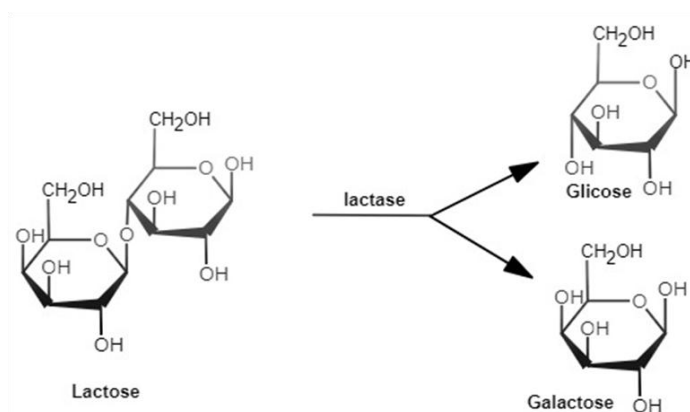
4.6.4 Teor de lactose anidra

A determinação do teor de lactose presente no leite ocorreu através do método denominado de Lane-Eynon. O dissacarídeo lactose é formado pela combinação de dois carboidratos menores, glicose e a galactose (monossacarídeos), unidos por uma ligação glicosídica (Figura 7). Esses monossacarídeos são definidos como poli-hidroxi aldeídos, devido à diversidade de grupos hidroxilas (OH) e um grupo aldeído (CHO) que compõem suas estruturas. Com isso, são capazes de reduzir soluções alcalinas como a solução de Fehling e, por isso, chamados de glicosídeos redutores (MAPA, 2014b).

Inicialmente pipetou-se cerca de 10 mL da amostra e transferiu-se para um balão volumétrico de 250 mL. Com o intuito de precipitar as proteínas e gorduras presentes no leite, para não interferir na análise, adicionou-se no balão 5 mL de ferrocianato de potássio a 15% e 5 mL de acetato de zinco a 30%. Em seguida, completou-se o balão volumétrico até o menisco com água destilada, homogeneizou e deixou-o em repouso por cerca e 15 minutos. Logo após, a solução foi filtrada em papel de filtro e transferida para bureta de 25 mL.

Posteriormente em um erlenmeyer foi adicionado 5 mL da solução Fehling A e 5 mL da solução Fehling B, 40 mL de água destilada e algumas pérolas de vidro. Aqueceu-se em uma chapa aquecedora, até ebulição. Quando a solução ficou levemente azulada, começou a gotejar a solução da bureta até a mudança de coloração na solução indicadora.

Figura 7. Estrutura química da lactose e dos monossacarídeos glicose e galactose.



Fonte: Adaptado de MAPA, 2014b.

Nesse método, o açúcar redutor, em forma de lactose, reage com íons cúpricos da solução de Fehling sob ação do calor, promovendo alterações na coloração da solução, conforme apresentado na Figura 8. A capacidade redutora dos carboidratos baseia-se na oxidação destes para ácidos aldônicos e redução do reagente oxidante (óxido cúprico) para formar o precipitado óxido cuproso.

Figura 8. Reação de Lane-Eynon em amostras de leite.



Fonte: Adaptado de MAPA, 2014b.

A partir da Equação 7 disponível na referência MAPA, 2014b, foi possível calcular o teor de lactose presente nas amostras de leite.

$$\text{Teor de lactose} = \frac{100 \times 250 \times \frac{T}{2} \times 1,39}{V \times m} \quad (7)$$

Onde:

T = título da solução de Fehling;

1,39 = fator de conversão da glicose para lactose;

V = volume de amostra gasto titulação;

m = massa da amostra.

4.7 Pesquisa de substâncias estranhas ou fraudulentas

4.7.1 Substâncias conservadoras e/ou inibidoras de crescimento microbiano

A adição de substâncias conservadoras e/ou inibidoras tem a função de evitar que os microrganismos provoquem a hidrólise do leite e consequentemente a formação do ácido láctico, tornando-o impróprio para o consumo. Dentre as substâncias mais utilizadas, destacam-se o peróxido de hidrogênio, formol, cloro e hipoclorito, como também, em alguns casos, o uso de antibióticos ou seus resíduos após o tratamento de enfermidades no animal do qual foi retirado o leite (TRONCO, 2010).

4.7.1.1 Identificação de peróxido de hidrogênio

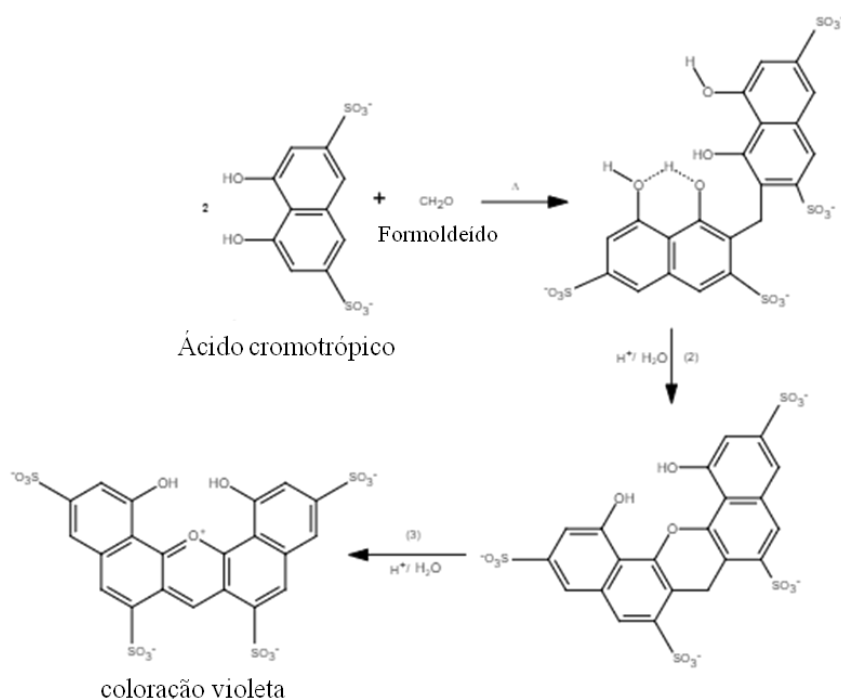
A técnica consiste em transferir 10 mL da amostra para tubos de ensaio e adicionar 2 mL de uma solução de guaiacol a 1% (MAPA, 2017). A enzima peroxidase degrada o peróxido de hidrogênio, oxidando o indicador a tetraguaiacol, responsável pelo surgimento da coloração salmão na amostra, como mostrado na Figura 3 (item 4.4.3, página 30).

4.7.1.2 Identificação de formaldeído

O formol é uma substância que apresenta ação antimicrobiana e é utilizado quando o leite não puder ser analisado em poucas horas. Cerca de 100 mL de leite homogeneizado, 100 mL de água destilada e 2 mL de ácido fosfórico 20% foram adicionados em um balão de destilação, recolhendo-se cerca de 50 mL do material destilado. Em um tubo de ensaio, 1 mL do destilado foi misturado com 5 mL de solução de ácido cromotrópico (0,5%) em solução de 100 mL de ácido sulfúrico (72%) e colocou-se em banho-maria por 15 minutos (MAPA, 2013c).

O resultado foi classificado como positivo caso houvesse a formação de uma coloração violácea. O formaldeído quando aquecido com ácido cromotrópico em presença de ácido sulfúrico origina um produto de condensação oxidado, que posteriormente transforma-se em um composto p-quinoidal de coloração violeta (Figura 9).

Figura 9. Reação do formaldeído com o ácido cromotrópico.



Fonte: Adaptado de MAPA, 2013c.

A proposta de mecanismo para essa reação aponta que provavelmente duas moléculas de ácido cromotrópico (ACT) se unem e reagem com uma de formaldeído em meio ácido sob aquecimento através de uma ponte metilênica. A estrutura intermediária resultante é então desidratada numa etapa seguinte, na posição dos grupos fenólicos, formando-se um heterociclo. Por último, uma etapa de oxidação produz a estrutura colorida de interesse analítico, um composto dibenzoxantílico monocatiônico.

4.7.1.3 Identificação de cloro e hipocloritos

A presença de cloro e hipocloritos no leite, na maioria das vezes, é decorrente dos resíduos sanitizantes dos equipamentos de ordenha ou da indústria, o que não impede de serem adicionados propositalmente. O teste foi realizado a partir da reação do iodeto de potássio com cloro livre ou hipoclorito. Misturou-se um volume de 0,5 mL de solução de iodeto de potássio (7,5%) com 5 mL da amostra de leite e submeteu-se à agitação. O aparecimento de uma coloração amarela foi usado como indicativo para a presença dessas substâncias na amostra (ADOLFO LUTZ, 2008).

4.7.2 Pesquisa de reconstituintes de densidade

Os reconstituintes de densidade são utilizados para mascarar a adição de água, que provoca a diminuição da densidade do leite, portanto, têm a função de tornar o leite mais consistente aproximando-se da sua densidade normal (TRONCO, 2010). As substâncias pesquisadas para esse tipo de fraude foram: amido solúvel e sacarose.

4.7.2.1 Identificação de amido

A identificação do amido é feita pela ação do iodo sobre a cadeia de beta-amilose. Com auxílio de uma pipeta, 10 mL da amostra foram transferidas para tubos de ensaio e aquecidas até ebulição em banho-maria. Após resfriar os tubos em água corrente, adicionou-se duas gotas de solução de Lugol. O surgimento de uma coloração azul foi utilizado como positivo para a presença de amido (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.7.2.2 Identificação de sacarose

A identificação de sacarose em amostras de leite é feita na forma de açúcar invertido: glicose e frutose, liberando o radical redutor aldeído. Aproximadamente 15 mL do leite foram transferidos para tubos de ensaio, adicionou-se 1 mL de ácido clorídrico p.a e 0,1g de resorcina. Homogeneizou-se e aqueceu-se os tubos em banho-maria até ebulição por cinco

minutos. Segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), em meio ácido, a resorcina condensa-se com a sacarose em uma reação de oxirredução e forma um composto de coloração rósea.

4.7.3 Substâncias redutoras de acidez

Durante o processo fermentativo natural do leite, as bactérias ácido lácticas degradam a lactose em ácido láctico e outros compostos. O ácido láctico é responsável por aumentar a acidez do leite, com isso, agentes neutralizantes são adicionados para reduzir essa acidez. As substâncias mais utilizadas para esse processo são: bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio e soda (TRONCO, 2010).

4.7.3.1 Identificação de bicarbonato de sódio

Nesse teste a amostra é tratada com álcool etílico para extrair o bicarbonato de sódio, e posteriormente utiliza-se o ácido rosólico, que é um indicador com faixa de viragem de pH entre 6,8 e 8,0. Com o auxílio de uma pipeta, foi transferido para um tubo de ensaio 5 mL da amostra. Em seguida, adicionou-se 5 mL de álcool etílico p.a e três gotas de ácido rosólico 5%. Na presença de bicarbonato de sódio aparecerá uma coloração vermelho carmim (BRASIL, 2006).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Investigação da venda de leites no comércio local

O leite pode ser encontrado em diferentes formas nos comércios, desde bebida pronta para consumo, como também em queijos, doces, manteigas, dentre outros alimentos. Estes produtos, quando não são artesanais, passam por um controle de qualidade, porém a sua venda *in natura* sem inspeção, que não tem a sua qualidade avaliada e apresenta procedência duvidosa, ainda acontece por todo o país. Na região Nordeste, mais especificamente, o consumo do leite *in natura* é vigorosamente realizado, por estar ligado à cultura da região ou até mesmo por preferência dos consumidores.

O consumo de leite *in natura* pode estar relacionado diretamente com a renda da população, atividade profissional e disponibilidade do produto na região. Azevedo (2015) analisou o perfil do mercado consumidor de leites no município de Bananeiras-PB e constatou que 45% dos entrevistados consomem leite *in natura* devido a sua maior disponibilidade. A maioria das pessoas que participaram da pesquisa residia em sítios distantes de armazéns e mercados, e aqueles que não produziam seu próprio leite, muitas vezes acabavam comprando de seus vizinhos.

Outro fator que pode induzir na hora da compra do leite *in natura* é o menor custo em relação aos industrializados. Na Tabela 8, estão os preços por litro das amostras analisadas e o tipo de embalagem na qual o leite é comercializado. A diferença entre o leite mais caro e o mais barato foi de apenas R\$0,50 (cinquenta centavos), enquanto os preços dos leites industrializados nos estabelecimentos comerciais do município chegam a variar de R\$2,85 a R\$4,50.

Tabela 8. Preço do litro das amostras e embalagem na qual os leites são comercializados.

Amostras	Preço por litro (R\$)	Tipo de embalagem
A	2,50	garrafa PET
B	2,00	garrafa PET
C	2,50	garrafa PET
D	3,00	saquinho plástico
E	2,50	garrafa PET
F	2,80	saquinho plástico

Os resultados da Tabela 8 ressaltam que os preços do leite podem ser influenciados pelo tipo de embalagem que é comercializado. É importante observar que os menores preços foram das amostras vendidas em garrafas PET, possivelmente por estarem mais acessíveis aos produtores no município e regiões vizinhas, em relação aos sacos plásticos que são mais específicos.

5.2 Características organolépticas

As características organolépticas do leite podem sofrer variações devido à presença de partículas estranhas à sua composição, como também dependendo do tipo e condições do recipiente que é armazenado e/ou comercializado. Dentre as amostras analisadas, a amostra C foi a única que exibiu pequenos grumos e partículas estranhas (Tabela 9). A amostra apresentava-se com aspecto de congelada e os grumos eram semelhantes a pequenos flocos de gelo. Além disso, pequenos pontos pretos eram visualizados quando na homogeneização do leite, possivelmente decorrente de falhas na higienização da embalagem ou durante o processo de ordenha.

Tabela 9. Características organolépticas observadas em cada amostra.

Amostras	Odor ^a (característico)	Aspecto ^a
		(líquido branco opalescente homogêneo)
A	característico	líquido, homogêneo, sem grumos e sem partículas estranhas
B	característico*	líquido, homogêneo, sem grumos e sem partículas estranhas
C	característico	líquido, homogêneo, com pequenos grumos finos e partículas estranhas
D	característico	líquido, homogêneo, sem grumos e sem partículas estranhas
E	característico	líquido, homogêneo, sem grumos e sem partículas estranhas
F	característico	líquido, homogêneo, sem grumos e sem partículas estranhas

a – IN 76/2018; *a embalagem na qual o leite foi vendido apresentava odor forte de refrigerante.

Segundo Tronco (2010), a contaminação do leite pode acontecer por duas vias: endógena, quando os animais apresentam algum tipo de enfermidade, e exógena após a saída do úbere do animal, por isso é importante que o alimento seja comercializado em embalagens limpas e adequadas, pois independente da via de contaminação, ambos os casos contribuem para alterações na composição natural do leite.

5.3 Análises microbiológicas – parâmetros qualitativos

A prova da lactofermentação, além de indicar a microbiota predominante no leite, também pode ser aplicada como triagem nas indústrias de laticínios, onde é observada a presença de algum inibidor dos microrganismos naturais do leite (MIYOSHI et al., 2017). De acordo com a tabela, observa-se que apenas a amostra A apresentou predominância de bactérias ácido lácticas no teste da lactofermentação (Item 4.4.1, Tabela 5). Esse grupo de bactérias compõe naturalmente a microbiota do leite e são utilizadas pelas indústrias em processos de beneficiamento do leite.

Tabela 10. Resultados do teste da lactofermentação.

Amostras	Lactofermentação ^a
A	gelatinoso, pouco soro, sem gás e poucos orifícios
B	esponjoso, muitos orifícios grandes e muito soro
C	sem coágulo, aspecto líquido, poucos orifícios, sem gás e sem soro
D	encolhimento do coágulo, muito soro, com um pouco de gás
E	esponjoso, com soro, orifícios, e um pouco de gás
F	esponjoso, com soro, orifícios, e um pouco de gás

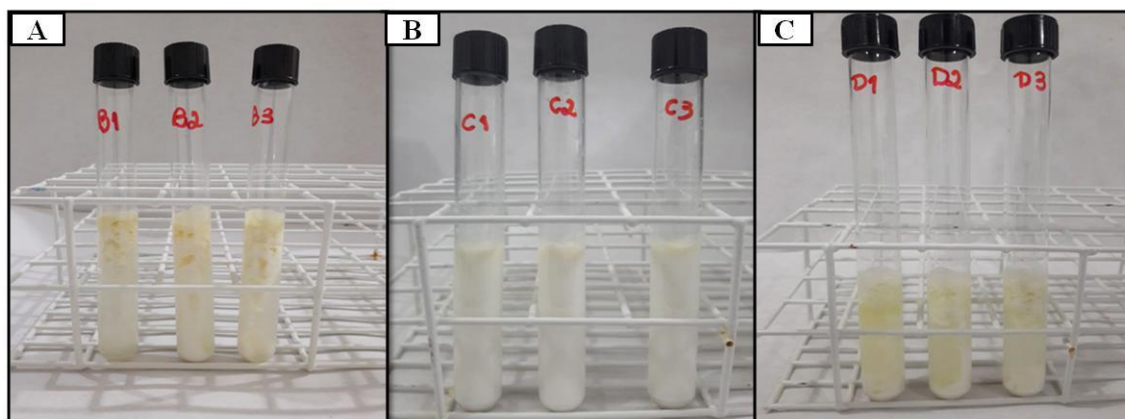
a – Behmer, 1999.

A microbiologia é um dos fatores que determina a obtenção de um leite de boa qualidade, pois avalia a sua contaminação por microrganismos, que estão diretamente associados à saúde do animal, como também às condições gerais de manejo e higiene adotados nas propriedades que produzem leites. Observa-se que, o coágulo formado nas amostras B, E e F apontaram maior incidência de bactérias coliformes. De acordo com Rocha e colaboradores (2016), o grupo de bactérias coliformes é natural do ambiente, e indesejáveis, pois indicam más condições higiênicas durante a ordenha, transporte ou armazenamento.

No caso da amostra B (Figura 10), a embalagem que o leite foi vendido estava com odor forte de refrigerante, e na amostra E, a embalagem estava amassada e suja por fora, o que contribui para uma possível contaminação das amostras por esses microrganismos. A amostra F apesar de não apresentar más condições da embalagem, estava armazenada no mesmo recipiente utilizado durante a ordenha. Para ser comercializado, o leite é transferido para sacos plásticos na hora da venda, podendo haver contaminação exógena do leite durante

esse processo, por bactérias presentes no ambiente ou na própria mão da pessoa que está manipulando, caso não tenha sido higienizada corretamente.

Figura 10. Teste da lactofermentação após 24 horas de incubação. (A) Amostra B. (B) Amostra C. (C) Amostra D.



Fonte: Própria.

A amostra C não apresentou coágulo característico, possivelmente devido ao resfriamento do leite em temperaturas muito baixas ou algum resíduo de antibióticos aplicado em tratamentos de doenças no rebanho. Da mesma forma que baixas temperaturas podem diminuir a atividade biológica de algumas bactérias, temperaturas em torno de 4°C podem favorecer o crescimento de microrganismos psicotróficos quando o leite é refrigerado nessas condições por muito tempo. Esse tipo de bactéria é capaz de produzir enzimas termoresistentes, ocasionando danos tecnológicos, econômicos e diminuição do tempo de prateleira do leite (MENEZES, et al., 2014).

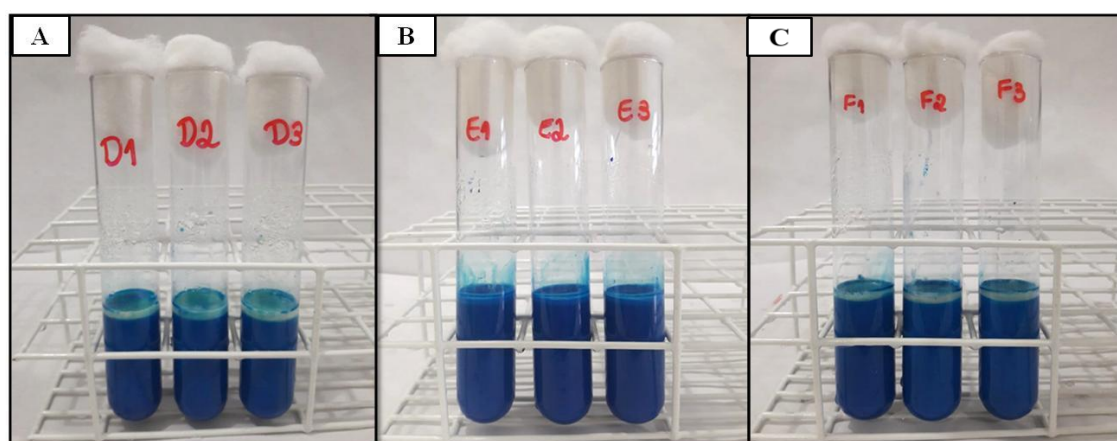
Já a amostra D foi à única que indicou preeminência a grupo de bactérias proteolíticas (Tabela 10), segundo Mörschbacher e colaboradores (2017), esses microrganismos são derivados de fontes de contaminação externas, e podem contaminar o leite através da má higienização dos tetos, e utilização de água não potável na lavagem de equipamentos e utensílios de ordenha, visto que esta apresenta altos índices da presença bactérias psicotróficas dos gêneros *Pseudomonas*, *Aeromonas*, e *Alcaligene*.

Pozza e colaboradores (2015) também avaliaram o coágulo de amostras de leite cru refrigerado, e verificaram que três apresentaram coágulo digerido no teste da lactofermentação. Os autores ressaltam que esse tipo de coágulo indica o predomínio de proteolíticos microbianos, lácticos e coliformes, que podem causar gosto desagradável no leite

e manteiga. Resultados parecidos foram encontrados por Amorim (2017), em leites cru e beneficiados comercializados no Distrito Federal e Entorno.

Em relação ao teste de redutase, nenhuma amostra teve os tubos totalmente e/ou parcialmente descorados (Figura 11). Entretanto, observou-se a formação de halo branco na parte superior dos tubos e a tonalidade do indicador azul de metileno ficou menos intensa durante o período da análise, como é o caso da amostra D que formou o halo em 1:30h e teve a redução na intensidade do corante nos primeiros 30 minutos (Tabela 11). A amostra E, por outro lado, mesmo com a formação do halo branco em meia hora, manteve a intensidade da cor do indicador.

Figura 11. Teste de redutase após 5:30h. (A) Amostra D. (B) Amostra E. (C) Amostra F.



Fonte: Própria.

A amostra A apresentou halo branco em 2:30h, já as amostras B e C formaram o halo em 4:30h, indicando uma possível carga microbiana baixa no leite, diferentemente das amostras D e F que apresentaram halo branco intenso em 1:30h. Embora a o teste de redutase seja simples e de baixo custo, Pereira e colaboradores (2012) concluíram em seu trabalho que o ensaio pode apresentar resultados falso-negativos ou falso-positivos, mascarando a qualidade real do produto, portanto deve ser usado com muita cautela e acompanhado por um controle quantitativo para fins de comparação.

Tabela 11. Resultados do teste de redutase com o tempo de formação do halo branco.

Redutase ^a (mínimo 3:30h)	Amostras					
	A	B	C	D	E	F
	2:30h	4:30h	4:30h	1:30h	0:30h	1:30h

a – IN 51/2002.

Menezes e colaboradores (2014) fizeram um estudo sobre a microbiota e conservação do leite, e destacaram a importância do conhecimento e controle microbiológico do leite, visto que, diversos microrganismos são patogênicos aos seres humanos e podem ser associados ao processo inflamatório da glândula mamária, também conhecido como mastite, que aumenta a carga de células somáticas presentes no leite.

A mastite é uma das enfermidades que ocorre com mais frequência nas vacas, e apresenta-se tanto na forma clínica, quando os sinais da inflamação são evidentes e pode ser identificado de forma simples com o teste da caneca de fundo preto, quanto na forma subclínica, onde o processo inflamatório necessita de testes mais sofisticados para o seu diagnóstico. É considerada uma das principais causas de perdas à indústria leiteira, pois além dos gastos nos programas de controle higiênico-sanitários, também provoca alterações na qualidade e quantidade do leite produzido (ACOSTA et al., 2016).

Observa-se na Tabela 12, que todas as amostras manifestaram resultados positivos para a enzima peroxidase. A avaliação da presença dessa enzima em leites *in natura* tem maior importância quando a matéria prima é recebida na indústria, contudo, em alguns casos, o leite cru é aquecido antes da venda direta ao consumidor.

Tabela 12. Resultados do teste da enzima peroxidase.

Peroxidase ^a (positivo)	Amostras					
	A	B	C	D	E	F
	positivo	Positivo	positivo	positivo	positivo	positivo

a – IN 76/2018.

O aquecimento de forma incorreta do leite pode inativar a enzima peroxidase e trazer vários prejuízos às indústrias de laticínios, além de provocar perdas dos constituintes nutricionais que compõem o alimento. Dado que, nenhuma amostra apresentou resultado negativo para o teste, acredita-se que os leites analisados não tenham sido superaquecidos antes da sua comercialização.

Os mesmos resultados foram obtidos por Júnior e colaboradores (2014) em amostras de leite cru coletadas na região de Ivaiporã-PR, onde notou-se que todas as amostras estavam de acordo com o que é exigido pela legislação, respeitando o tratamento térmico a 80°C ou temperatura abaixo, tendo em vista que a enzima peroxidase desnatura em temperatura igual ou superior a esta.

Seixas e colaboradores (2014) estudaram a presença da enzima peroxidase em amostras de leite pasteurizado integral de diferentes laticínios, destinadas ao consumo na região Norte do Paraná, e destacaram que a ausência da enzima pode ser decorrente a fraudes por adição de substâncias adulterantes, para mascarar a baixa qualidade microbiológica da matéria prima, como também resultante de falhas durante o processamento do leite e no tempo/temperatura da pasteurização.

5.4 Parâmetros físico-químicos

Além da temperatura de pasteurização é imprescindível que os produtores se atentem aos novos limites de temperatura para recebimento e armazenagem do leite publicados na IN 76/2018, que passaram a ser até 9°C no recebimento do estabelecimento. Segundo o Art.29. dessa Instrução Normativa, é permitido o transporte de leite em latões ou tarros, em temperatura ambiente, desde que seja entregue ao estabelecimento processador em até duas horas após o final de cada ordenha, e transportados em veículos protegidos do sol e de chuvas.

As amostras C e D foram as únicas que tiveram suas temperaturas mais próxima ao que é exigido pelo MAPA, as demais foram comercializadas em temperatura ambiente, conforme disposto na Tabela 13.

Tabela 13. Aferição da temperatura das amostras no laboratório.

Amostras						
Temperatura ^a (máximo 9°C)	A	B	C	D	E	F
	27,0 ± 0,00	28,0 ± 0,00	13,0 ± 0,00	13,0 ± 0,00	28,0 ± 0,00	27,0 ± 0,00

a – IN 76/2018;

Um dos grandes desafios e ponto de discussão no sistema de armazenamento e transporte do leite é a manutenção de baixas temperaturas. O tipo e a carga microbiana inicial, juntamente com a temperatura de armazenamento do leite, são parâmetros que influenciam na proliferação das bactérias do leite no seu estado *in natura*. Desse modo, é imprescindível que a refrigeração seja próxima a 9°C para inibir a multiplicação tanto dos microrganismos mesófilos, quanto psicrótrófos (MENEZES et al. 2014).

O leite é um alimento levemente ácido e quando de boa qualidade apresenta pH entre 6,6 e 6,8. No entanto, o aumento da sua acidez pode ocorrer devido à produção de ácido láctico a partir da degradação da lactose, pela ação de microrganismos. Portanto, a acidez real do

leite é a combinação da acidez natural e da acidez adquirida, e pode ser usada como indicativo da estabilidade térmica e o estado de conservação do leite. A sua investigação acontece por meio dos testes do alizarol 72% que é um método qualitativo, acidez titulável que fornece um resultado quantitativo, ou medição diretamente em um pHmetro (DIAS e ANTES, 2014).

Observa-se na Tabela 14 que as amostras apresentaram estabilidade ao alizarol 72% e medidas do pH satisfatórias. Os resultados foram distintos ao de Amorim (2017), onde quatro (4%) amostras apresentaram aspecto de alcalinidade no teste do alizarol, sendo uma (1%) de leite pasteurizado e três (3%) de leite UAT (Ultra Alta Temperatura). O mesmo autor ainda encontrou instabilidade na prova de álcool em duas (2%) amostras, uma (1%) de leite cru informal e uma (1%) de leite UAT.

Tabela 14. Resultados das análises de pH e estabilidade ao alizarol 72%.

Parâmetros	Amostras					
	A	B	C	D	E	F
pH^a (6,6 a 6,8)	6,61 ± 0,04	6,68 ± 0,02	6,63 ± 0,06	6,56 ± 0,05	6,74 ± 0,01	6,73 ± 0,01
Alizarol 72%^b (estável)	estável	estável	estável	estável	estável	estável

a – IN 68/2006; b – IN 76/2018.

Fagnani e colaboradores (2016) relacionaram o pH, a contagem bacteriana total, a acidez Dornic e a porcentagem de lactose do leite instável não ácido, comparando-o com o leite normal e o leite ácido em 322 amostras de leite cru coletadas diretamente de latões em seis municípios da região norte do estado do Paraná. Através das análises, constatou-se que diferentemente de leites normais ou ácidos, não existe relação entre pH, CBT e acidez Dornic em amostras de leite que possuem instabilidade alcoólica sem acidez adquirida.

Brasil e colaboradores (2015) ressaltam que o teste do álcool ainda pode ser uma alternativa para estimar a estabilidade do leite, por ser rápido, prático e de baixo custo. No entanto, o leite que precipita no teste do álcool não necessariamente precipitará nos tratamentos térmicos, podendo ocasionar resultados equivocados. Por consequência, a acidez do leite deve ser avaliada por um conjunto de provas que visem auxiliar no diagnóstico de acidez bacteriana e/ou resistência térmica (FAGNANI et al. 2016).

Apesar do pH das amostras C e E estarem ideais, seus valores de acidez em ácido láctico mantiveram-se abaixo do permitido (Tabela 15). Geralmente, as variações da acidez em

ácido láctico são influenciadas pela atividade de microrganismos mesófilos, indicativos de que as vacas do qual o leite foi ordenhado possivelmente estavam com alguma inflamação no teto.

Tabela 15. Valores obtidos na análise da acidez em ácido láctico.

Acidez em ácido láctico ^a (0,14 a 0,18g/mL)	Amostras					
	A	B	C	D	E	F
	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,00	0,11 ± 0,01

a – IN 76/2018.

Os resultados da análise de acidez em ácido láctico diferem dos resultados obtidos por Silveira e Bertagnolli (2014) em leites cru comercializados informalmente em Santa Maria-RS, que registrou valores de 0,14 a 0,33g de ácido láctico/100 mL. Os autores associaram essas variações à atividade dos microrganismos presentes nas amostras analisadas.

Determinar a densidade das amostras é uma das análises mais simples no controle de qualidade do leite, pois não envolve reações químicas ou instrumentação sofisticada. Isso não desqualifica a importância do seu estudo, já que, variações muito altas ou muito baixas de densidades no leite são resultantes de possíveis adulterações, comprometendo a sua composição físico-química e nutricional.

Observa-se na Tabela 16 que nenhuma amostra apresentou densidades elevadas, por outro lado as amostras A e D tiveram seus valores inferiores pelo permitido na IN 76/2018, indicativo de adição de água, desnate ou desequilíbrio da composição nutricional dos leites.

Tabela 16. Valores obtidos na aferição da densidade relativa.

Amostras	Densidade relativa ^a (1,028 a 1,034 g/mL)
A	1,027 ± 0,000
B	1,030 ± 0,000
C	1,034 ± 0,000
D	1,027 ± 0,000
E	1,025 ± 0,000
F	1,028 ± 0,000

a – IN 76/2018.

De acordo com Pacheco (2011), a densidade representa o peso específico do leite e pode ser determinado por dois grupos de substâncias: concentração de elementos em solução e suspensão, e/ou porcentagem de gordura, já que, no leite a densidade advém do balanço dos componentes de gorduras e dos sólidos não gordurosos, que possuem valores abaixo e acima em relação ao da água. Além disso, a aguagem do leite também pode reduzir o seu valor nutricional, pois altera a relação de seus constituintes.

Silva e colaboradores (2017) avaliaram a qualidade físico-química e possíveis fraudes em amostras de leite *in natura* comercializadas informalmente no município de Aparecida-PB. Os autores encontraram irregularidades na análise da densidade e crioscopia em 54,16% das seis amostras analisadas, não atendendo aos requisitos estabelecidos, segundo a antiga Instrução Normativa nº 62, de dezembro de 2011.

As amostras de leite cru informal analisadas por Mendonça e colaboradores (2015) no Paraná e Molina e colaboradores (2015) em Itaquí-RS, apresentaram valores médios de densidade em desconformidade com a legislação, estando abaixo de 1,028 g/mL. As principais razões apontadas na literatura para promover modificações significativas na densidade é a adição de água e o desnate excessivo do leite. Em alguns casos, para melhores confirmações nas análises desse parâmetro, analisa-se o índice crioscópico junto.

5.5 Parâmetros nutricionais

Esse estudo não permitiu determinar a crioscopia das amostras, devido à indisponibilidade do equipamento, consequentemente, não podemos afirmar que os leites A e D foram adulterados com água no teste da densidade relativa. Entretanto, os valores da amostra A na Tabela 17, para os teores de proteínas, gordura e extrato seco total são inferiores aos limites mínimos exigidos, reforçando uma possível adulteração na amostra, diferentemente das amostras B e D que teve todos os parâmetros nutricionais com resultados satisfatórios.

Tabela 17. Valores obtidos nas análises dos teores de gordura, EST e ESD.

Amostras	Gordura ^a (mínimo 3,0g/100g)	EST ^a (mínimo 11,4g/100g)	ESD ^a (8,4g/100g)
A	2,22 ± 0,19	10,8 ± 0,01	8,71 ± 0,01
B	3,23 ± 0,25	13,6 ± 0,12	10,3 ± 0,19
C	5,94 ± 1,74	10,1 ± 0,51	4,19 ± 1,27

D	4,74 ± 0,11	13,8 ± 0,05	9,29 ± 0,07
E	3,80 ± 0,82	11,8 ± 0,16	7,98 ± 0,69
F	4,51 ± 0,36	11,7 ± 0,10	7,17 ± 0,28

a – IN 76/2018.

De acordo com Stergiadis e colaboradores (2014), os teores de gordura no leite geralmente são menores quando as vacas são confinadas e não têm acesso à pastagem. Por outro lado, dietas suplementadas podem aumentar a porcentagem de gordura, levando a variações na qualidade do leite durante o ano. Leites com teores de gordura abaixo do limite mínimo exigido, que ainda são utilizados pelos laticínios comprometem o rendimento industrial de derivados e são considerados fraudados.

Os teores de gordura, proteínas e lactose, são primordiais para as indústrias de laticínios, pois estão relacionados com maiores rendimentos na produção de queijos e derivados. Dessa forma, é importante que o leite atenda os limites mínimos preconizado pela legislação, por apresentarem um alto valor comercial e caracterizarem uma matéria prima de boa qualidade.

Silva e colaboradores (2017) encontraram teores de gordura em conformidade com a IN 62/2011 em todas as amostras analisadas de leite *in natura* comercializado informalmente no sertão paraibano. Concordando com Silveira e Bertagnolli (2014), que em seu experimento, avaliou o teor de gordura em duas amostras e obteve os valores de 5,61 e 3,07/100g. No entanto, Cardoso (2014) e Mendes e colaboradores (2014) verificaram que das amostras de leite cru refrigerado analisadas pelos autores 50% e 5,5% respectivamente, estavam em desacordo com a legislação.

No teor de extrato seco total (EST) apenas as amostras A e C apresentaram valores abaixo do estabelecido na IN 76/2018. Freitas et al. (2013) que analisaram o leite cru em três localidades do estado da Paraíba também obtiveram resultados de EST com valores inferiores em torno de 87,26% a 88,21% das amostras avaliadas, resultado parecidos com o trabalho de Silva e colaboradores (2017), que obtiveram resultados com variações de 83,4% a 89,77% de extrato seco total.

A diminuição do teor de EST no leite pode ser indicativo de uma possível alimentação deficiente do rebanho, como também pode ser decorrente do processo de aguagem. Dessa forma, enfatiza-se a importância da avaliação do percentual de água dos alimentos, visto que, reflete no teor de sólidos do produto, assim como na sua estabilidade e composição. Além

disso, ainda pode auxiliar na sua deterioração, afetando o tempo de vida de prateleira, a sua composição físico-química e a qualidade nutricional (PITA, 2012).

O extrato seco desengordurado (ESD) corresponde à soma dos componentes do leite, com exceção da água e da gordura. Nesse estudo, três amostras (C, E e F) tiveram seus teores de ESD inferiores ao exigido pela IN 76/2018 (Tabela 18). A diminuição desses componentes na maioria das vezes indica uma possível redução no teor de proteínas e lactose, o que não foi caso dos valores encontrados nesse estudo, visto que as mesmas amostras apresentaram teores de proteínas e lactose em conformidade com a legislação.

Amorim (2017) avaliou 100 amostras de leite e seis (6%) estavam com ESD abaixo do recomendado, sendo quatro (4%) de leite cru (três informal e um formal) e duas (2%) de leite pasteurizado. As mesmas amostras segundo o autor, também apresentaram teores de proteínas abaixo do mínimo estabelecido, diferindo-se dos resultados encontrados nesse trabalho, conforme mostrado na Tabela 18.

Com exceção da amostra A, todas as demais tiveram conteúdos de proteínas acima do mínimo exigido pela legislação vigente. As proteínas que compõem o leite são subdivididas em caseína e proteínas do soro, normalmente, o conteúdo total de proteínas no leite não diferem-se, porém a fração de cada tipo pode variar de modo significativo, principalmente em vacas com mastite, na qual o processo inflamatório tende a reduzir as proteínas sintetizadas na glândula mamária e aumentar a síntese de proteínas de origem sanguínea (TRONCO, 2010).

Tabela 18. Valores obtidos nas análises dos teores de proteínas e lactose.

Amostras	Proteínas^a (mínimo 2,9g/100g)	Lactose^a (mínimo 4,3g/100g)
A	1,56 ± 0,13	4,91 ± 0,46
B	3,43 ± 0,13	8,13 ± 0,41
C	2,94 ± 0,09	7,51 ± 0,03
D	3,34 ± 0,09	9,72 ± 0,11
E	6,28 ± 0,13	6,72 ± 0,08
F	4,82 ± 0,05	8,63 ± 0,13

a – IN 76/2018.

A composição proteica do leite é influenciada por vários fatores ambientais, sendo os principais: a raça, alimentação, manejo e doenças, assim como a estação do ano, estágio da

lactação e idade da vaca (PEREZ JUNIOR, 2002). Flores e colaboradores (2015) analisaram leites cru comercializados informalmente no município de Itaqui-RS e também encontraram valores elevados para os teores de proteínas nas 21 amostras avaliadas pelos autores.

Todas as amostras tiveram teores de lactose acima do estabelecido pela legislação vigente (Tabela 18), diferentemente das amostras de leite cru informal avaliadas por Motta e colaboradores (2015), que obtiveram 40% das amostras com teor de lactose menor que o estabelecido na Instrução Normativa 62/2011.

A determinação da lactose é de suma importância para o estudo do valor nutritivo e composição centesimal do leite, além de contribuir com a sua textura, cor e sabor. A lactose é o principal carboidrato do leite e representa aproximadamente a metade dos sólidos não gordurosos. Sua diminuição está relacionada principalmente com processos de fermentação, causada por microrganismos que degradam a lactose em ácido lático, mas também pode ser decorrente de uma restrição na dieta nutricional adequada dos animais (BRASIL, 2013).

Flores e colaboradores (2015), também encontraram conteúdo de lactose abaixo do preconizado na legislação em 47,6% das amostras de leite analisadas. Os autores relacionaram os resultados obtidos com a alimentação inadequada dos animais e as más condições higiênicas sanitárias de ordenha, visto que os animais eram mantidos em pastagens mal manejadas ou criados em terrenos baldios.

Existem diversos fatores que afetam a composição físico-química e nutricional do leite. Nesse estudo apenas duas, dentre as seis amostras avaliadas, tiveram todos os parâmetros nutricionais satisfatórios. Como não foi possível avaliar quantitativamente a microbiologia dos leites analisados, é possível podermos relacionar às variações da composição nutricional encontrada, com as condições de alimentação, idade e estado de saúde do animal, como também, com os intervalos inapropriados entre as ordenhas.

5.6 Pesquisa de substâncias fraudulentas

Na pesquisa de substâncias fraudulentas, nenhuma amostra demonstrou resultados positivos para os adulterantes analisados, como mostrado na Tabela 19. A ausência dessas substâncias químicas nos leites avaliados indica que nenhuma adulteração proposital ou acidental foi realizada por parte dos produtores e/ou comerciantes. Essas substâncias são classificadas de acordo com o objetivo do seu uso, e na maioria dos estudos são divididas em grupos de substâncias conservadoras e/ou inibidoras, redutoras da acidez ou reconstituintes da densidade (TRONCO, 2010).

Tabela 19. Resultados da pesquisa de substâncias fraudulentas.

Parâmetros ^a	Amostras					
	A	B	C	D	E	F
Peróxido de hidrogênio (negativo)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Cloro e hipocloritos (negativo)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Formaldeído (negativo)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Bicarbonato de sódio (negativo)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Amido (negativo)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sacarose (negativo)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo

a – IN 76/2018.

Os resultados desse estudo diferem do trabalho feito por Amorim (2017), onde o autor identificou a presença de substâncias químicas fraudulentas em 27 amostras (27%). Das quais, 24 (24%) apresentaram-se fraudadas por substâncias reconstituíntes da densidade, sendo seis (6%) positivas para sacarose. No mesmo trabalho, duas amostras (2%) foram testadas positivas para a pesquisa de neutralizantes da acidez (bicarbonato de sódio) e, em uma amostra (1%) foi detectada a presença de resíduos de antibióticos.

Na avaliação da qualidade do leite *in natura*, pasteurizado e esterilizado (UHT), comercializado em barra do Bugres-MT, Rocha e colaboradores (2016), tiveram todas as amostras (100%) com resultados negativos para adição de amido. Esse tipo de fraude é muito utilizado para corrigir a densidade do leite precedido de aguagem, assim como a adição da sacarose. Nenhuma amostra nesse estudo apresentou valores de densidade acima do permitido pela Instrução Normativa 76/2018 (Tabela 11), logo os resultados conferem com testes para amido e sacarose apresentados na Tabela 19.

Mareze e colaboradores (2015) identificaram sete amostras de leite pasteurizado produzido por laticínios da região norte do Paraná com presença de substâncias conservadoras e/ou inibidoras. Quatro amostras (5%) deram positivas para hipoclorito, no entanto, nenhuma

destas amostras apresentou alteração físico-química que pudesse sugerir a presença de alguma substância conservante. O mesmo aconteceu com as três (3,7%) amostras que testaram positivas para sacarose, mas apresentaram resultado dentro do padrão para crioscopia e densidade.

Sovinski e colaboradores (2014) não detectaram a presença de substâncias inibidoras em amostras de leite cru informal comercializados no município de Cafelândia-PR. Por outro lado, Molina e colaboradores (2015), encontraram resultados positivos resíduos de antibióticos da classe Tetraciclina em pelo menos uma das amostras analisadas. Contudo, no mesmo, os autores ressaltam que nenhuma das amostras indicou presença de cloro e hipocloritos, peróxido de hidrogênio e formol, substâncias muitas vezes utilizadas por comerciantes com objetivo de conservar a matéria prima.

Os resultados obtidos por Mareze e colaboradores (2015), indicam que sem a pesquisa de substâncias fraudulentas, muitas vezes o leite fraudado pode passar despercebido pela indústria ou até mesmo pela vigilância sanitária. De acordo com Tronco (2010), as substâncias fraudulentas podem mascarar os resultados de análises de conservação, dando uma falsa sensação de qualidade ao alimento.

A utilização equilibrada de substâncias reconstituintes foi aperfeiçoada com passar do tempo à medida que novas exigências foram sendo estabelecidas pelas legislações. Muitas substâncias fraudulentas apresentam rápida degradação como é o caso do peróxido de hidrogênio, e algumas são muito voláteis. Dessa forma, podem dificultar a identificação da adulteração em leites por meio das análises convencionais, quando adicionadas em quantidades muito baixa, e pouco prováveis que apresentem efeitos adversos ao consumidor.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se verificar que para todas as amostras analisadas, foi encontrado pelo menos um parâmetro em desconformidade dos padrões exigidos pela atual legislação. Reforçando a importância do controle de qualidade do leite, desde o manejo, dieta balanceada e adequada dos animais, transporte, armazenamento, até a etapa de conservação e comercialização do produto final, seja como matéria prima ou produto beneficiado.

É importante ressaltar que é impossível obter um leite totalmente livre de microrganismos, pois além de compor a microbiota natural do leite, estão presentes por todo ambiente. No entanto, algumas medidas e cuidados higiênico-sanitários, principalmente durante o processo de ordenha, podem melhorar sua qualidade microbiológica, e consequentemente contribuir com a composição físico-química, nutricional e auxiliar na distribuição de um alimento seguro para a população.

No geral, as amostras de leites *in natura* analisadas nesse estudo demonstraram resultados insatisfatórios, principalmente quanto à temperatura no qual o alimento é comercializado, como também na densidade relativa, acidez em ácido lático e teores de EST, ESD, gordura e proteínas, caracterizando os leites distribuídos na cidade como impróprios para o consumo.

A qualidade é um dos temas mais abordados nos dias atuais dentro do cenário da produção de lácteos, sendo considerado o somatório de vários fatores, dentre os quais, as características organolépticas, estabilidade microbiológica, físico-química e nutricional. Dessa forma, o presente trabalho enfatiza a importância dos estudos no controle de qualidade em alimentos, como também destaca a necessidade de fiscalizações dos órgãos competentes para garantir a qualidade e segurança do leite comercializado no município de Areia/PB.

REFERÊNCIAS

- ABRANTES, M. R.; CAMPÊLO, C. S.; SILVA, J. B. A. Fraude em leite: métodos de detecção e implicação para o consumidor. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. 2014.
- ACOSTA, A.; SILVA, L. B. G.; MEDEIROS, E. S.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; MOTA, R. A. Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2016.
- AMORIM, A. L. B. C. Avaliação da presença de substâncias químicas em leites cru e beneficiado produzidos e comercializados no Distrito Federal e Entorno. 2017. 49f. **Dissertação**. (Mestrado em Saúde Animal). Brasília: Universidade de Brasília - Faculdade de Agronomia e Veterinária.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Esclarecimentos sobre os riscos à saúde das substâncias ureia e formol e sua adição no leite. **Informe Técnico n° 53**. 2013.
- ARAÚJO, G. B.; SANTOS, H. A.; FARIAS, C. E.; VIANA, D. A. F. VIEIRA, E. S.; JUNIOR, A. M. F. Detecção de resíduo de antibiótico em leite *in natura* em laticínio sob inspeção federal. **Scientia Plena**. 2015.
- ASSIS, J.; FERREIRA, J. D.; MARTINS, H. H.; BRAUN, M. B. S. Cadeia produtiva do leite no Brasil no contexto do comércio internacional. **Revista de Ciências Empresariais da Unipar – Receu**. 2016.
- AZEVEDO, D. K. R. O mercado consumidor de leite no município de Bananeiras-PB. 2015. 33f. **Trabalho de Conclusão de Curso**. (Graduação em Bacharelado em Zootecnia). Bananeiras: Universidade Federal da Paraíba.
- BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**. 13ª ed. São Paulo: Nobel, 1999.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. 1959.
- BRASIL. Decreto n° 66.183, de 5 de fevereiro de 1970. Regulamento o Decreto-lei n° 923, de 10 de outubro de 1969. **Dispõe sobre a comercialização do leite cru**. Brasília. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1970-1979/D66183.htm. Acesso em: 25/04/2020.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 76, de 26 de novembro de 2018. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 30 dez. 2018.
- BRASIL, R. B.; NICOLAU, E. S.; SILVA, M. A. P. Leite instável não ácido e fatores que afetam a estabilidade do leite. **Ciência Animal**. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 62, de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 30 dez. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físicoquímicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p. 8, 14 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 51. Regulamentos Técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos nº 1255 de 25 de junho de 1962, nº 1236 de 2 de setembro de 1994, nº 1812 de 8 de fevereiro de 1996 e nº 2.244 de 4 de junho de 1997. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal** - RIISPOA. Brasília, DF, 1997.

BRITO, M. A.; BRITO, J. R.; ARCURI, E.; LANGE, C.; SILVA, M.; SOUZA, G. Composição do leite. **Agência de Informação Embrapa**. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html. Acesso em: 17 jan. 2020.

CARDOSO, G. S. P. Avaliação físico-química e microbiológica do leite cru refrigerado e soros dos queijos minas frescal e mussarela estocados sob diferentes temperaturas. 2014. 125f. **Tese** (Doutorado em Ciência Animal). Goiânia: Universidade Federal de Goiás.

COUTINHO, N. M.; SILVEIRA, M. R.; PIMENTEL, T. C.; FREITAS, M. Q.; MORAES, J.; FERNANDES, L. M.; SILVA, M. C.; RAICES, R. S. L.; RANADHEERA, C. S.; BORGES, F. O.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; FERNANDES, F. A. N.; NAZZARO, F.; RODRIGUES, S.; CRUZ, A. G. Chocolate milk drink processed by cold plasma technology: physical characteristics, thermal behavior and microstructure. **LWT – Food Science and Technology**. 2019.

COUTO, J. M. A.; LELIS, V. G.; SANTOS, M. P.; CUNHA, A. F. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do processo de obtenção do leite cru no município de Sem Peixe - Minas Gerais. **Revista Científica UniScientiae**, 2018.

DIAS, J. A.; ANTES, F. G. Qualidade físico-química, higiênico-sanitária e composicional do leite cru: indicadores e aplicações práticas da Instrução Normativa 62. **Embrapa**, Rondônia, 2014.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Principais Indicadores Leites e Derivados: boletim eletrônico mensal**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. 2010.

FAGNANI, R.; BATTAGLINI, A. P. P.; BELOTI, V.; ARAUJO, J. P. A. Estabilidade do leite ao álcool ainda pode ser um indicador confiável? **Ciência Animal Brasileira**. 2016.

FAO; IDF. Food and Agriculture Organization e International Dairy Federation. **Guia de Boas Práticas na Pecuária de Leite**. Produção e Saúde Animal Diretrizes. 8. Roma, 2013.

FEI, X.; KANG, R.; YU-ZE, Y.; JIANG-PENG, G.; GUANG-PENG, M.; YI-MING, L.; YONG-QIANG, L.; XIU-BO, L. Immunoassay of chemical contaminants in milk: A review. **Journal of Integrative Agriculture**. 2015.

FERNANDES, V. G.; MARICATO, E. Análises físico-químicas de amostras de leite cru de um laticínio em Bicas-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. 2010.

FLORES, R. G.; EBRIN, A. T. W.; MELLO, K. T.; CENTENARO, G. S.; FURLAN, V. J. M. Composição Química do Leite Cru Comercializado Informalmente no Município de Itaqui-RS. In: 5º Simpósio de Segurança Alimentar, 2015. Bento Gonçalves. **Anais do 5º Simpósio de Segurança Alimentar - Alimentação e Saúde**, 25 a 29 de maio de 2015, Bento Gonçalves-RS, 2015.

FORCHETTI, D. A. P. Uso dos teores de gordura em chocolate determinados por estudantes de ensino médio na universidade para elaboração de um método rápido, simples e verde: proposta com aspectos didáticos e analíticos. 2013. 110 f. **Dissertação** (Mestrado em Química). Campinas: Universidade Estadual de Campinas - Instituto de Química.

FREITAS, W. C.; TRAVASSOS, A. E. R; MACIEL, J. F. Avaliação microbiológica e físico-química de leite cru e queijo de coalho produzidos no Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2017**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/areia/pesquisa/24/76693>. Acesso em: 20 abr. 2020.

IEA. Instituto de Economia Agrícola. Banco de dados. São Paulo: IEA. Disponível em: <http://www.iesa.gov.br/out/bancodedados.html>. Acesso em: 30 nov. 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. V. 1, 4ª edição, São Paulo, 2008.

KARTHEEK, M.; SMITH, A. A.; MUTHU, A. K.; MANAVALAN, R. Determination of adulterants in food: A Review. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**. 2011.

LAMPUGNANI, C; PERIN, A. P.; ZIECH, R. E.; CAXIAS JÚNIOR, O. A.; MONTANHINI, M. T. M.; BERSOT, L. S. Qualidade do leite cru refrigerado e características da produção leiteira na mesorregião oeste paranaense, Brasil. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. 2018.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal**. Secretaria de Defesa Agropecuária – Brasília: MAPA, 2017.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Determinação do Extrato Seco Total e Extrato Seco Desengordurado em Leite Fluido por Método Gravimétrico. Laboratório Nacional Agropecuário. Laboratório de Produtos de Origem Animal. **Método de Ensaio – MET POA/SLAV/07/03/01**. Emissão: 2014(a).

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Determinação de açúcares redutores em lactose, açúcares não redutores em sacarose e amido em produtos lácteos por

oxidimetria. Laboratório Nacional Agropecuário. Laboratório de Produtos de Origem Animal. **Método de Ensaio – MET POA/11/02/01**. Emissão: 2014(b).

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Determinação da densidade em leite fluido com uso do termolactodensímetro. Laboratório Nacional Agropecuário. Laboratório de Produtos de Origem Animal. **Método de Ensaio – MET POA/09/02/01**. Emissão: 2013(a).

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Determinação de Nitrogênio Total em Leite e derivados Lácteos pelo método de Micro-Kjedahl. Laboratório de Produtos de Origem Animal. **Método de Ensaio – MET POA/SLAV/33/02/03**. Emissão: 2013(b).

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Pesquisa de formaldeído em Leite. Laboratório de Produtos de Origem Animal. Pesquisa de formaldeído em Leite. **Método de ensaio - MET POA/24/01/01**. Emissão: 2013(c).

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Pesquisa de formaldeído em Leite. Laboratório de Produtos de Origem Animal. Pesquisa de peroxidase em leite fluido. **Método de ensaio - MET POA/14/01/03**. Emissão: 2012.

MAREZE, J. ; MARIOTO, L. R. M.; GONZAGA, N.; DANIEL, G. C.; TAMANINI, R.; BELOTI, V. Detecção de adulterações do leite pasteurizado por meio de provas oficiais. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**. 2015.

MELO, C. W. B.; BARBOSA, F. R.; PEREIRA, D. E. Avaliação da qualidade do leite cru refrigerado obtido em propriedades rurais localizadas na Paraíba. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. 2018.

MELO, A. F.; SILVA, M. A. P.; CARVALHO, B. S.; SILVA, F. R.; CARMO, R. M.; LAGE, M. E. Qualidade do leite cru tipo C e refrigerado em sistemas leiteiros tradicionais no Sudoeste Goiano. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. 2013.

MENDES, E. A. S.; PIRES, C. V.; DA SILVA, A. M.; & SILVA, L. S. Qualidade do leite cru refrigerado em função do tipo de ordenha coletado de produtores do município de Paracatu-MG. **Zootecnia**. 2014.

MENDONÇA, M. B. O. C.; CURIKI, Y.; JULIANI, G. L.; DE SANTANA, E. H. W.; ALEGRO, L. C. A. Qualidade físico-química de amostras de leite cru comercializadas informalmente no Norte do Paraná. **Journal of Health Sciences**. 2015.

MENEZES, M. F. S. C.; SIMEONI, C. P.; BORTOLUZZI, D.; HUERTA, K.; ETCHEPARE, M. A.; MENEZES, C. R. Microbiota e conservação do leite. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. 2014.

MIYOSHI, L. Y.; GALVAO, J. A.; FERRARI, M. V. Teste da suficiência da prova oficial brasileira na detecção de peróxido de hidrogênio em leite. In: VII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 2017, Curitiba. **Anais do VII Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite**, 28 e 29 de setembro de 2017, Curitiba-PR, 2017.

MOLINA, C. H. A.; CENTENARO, G. S.; FURLAN, V. J. M. Qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Itaqui-RS. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**. 2015.

MORSCHBACHER, V. K.; REMPEL, C.; MACIEL, M. J. Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado na propriedade produtora de leite e após o transporte para a indústria beneficiadora. **Arquivos do Instituto Biológico**. 2018.

MOTTA, R. G.; SILVA, A. V.; GIUFRIDA, R.; SIQUEIRA, A. K.; PAES, A. C.; MOTTA, I. G.; RIBEIRO, M. G.; LISTONI, F. J. P. Indicadores de qualidade e composição de leite informal comercializado na região Sudeste do Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2015.

NERO, L. A.; DA CRUZ, A. G.; BERSOT, L. S. **Produção, Processamento e Fiscalização de Leites e Derivados**. Editora: Atheneu. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte, 2017.

PACHECO, M. S. Leite cru refrigerado do agreste pernambucano: caracterização da qualidade e do sistema de produção. 2011. 87 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco.

PEREIRA, P. C. Milk nutritional composition and its role in human health. **Nutrition**. 2014.

PEREIRA, J. G.; MAZIERO, M. T.; BARCELLOS, Vinicius Cunha; PINTO, J. P. A. N.; BERSOT, L. S. Testes de redutase para a avaliação da qualidade de leite cru refrigerado. **Unopar Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**. 2012.

PEREZ JUNIOR, F. porcentagem de gordura, proteína e lactose em amostras de leite de tanques. 2002. 76f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias). Curitiba: Universidade Federal do Paraná.

PITA, J. S. L. Caracterização físico-química e nutricional da polpa e farinha da casca de maracujazeiros do mato e amarelo. 2012. 77 f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia de Processos de Alimentos) Tapetinga: Universidade Estadualdo Sudoeste da Bahia. 2012.

POGHOSSIAN, A.; GEISSLER, H.; SCHÖNING, M. J. Rapid methods and sensors for milk quality monitoring and spoilage detection. **Biosensors and Bioelectronics**. In Press Accepted Manuscript, 2019.

POZZA, M. S. S.; RAMOS, C. E. C. O.; JOBIM, C. C.; MADRONA, G. S.; POZZA, P. C.; BÁNKUTI, F. I. Identificação de micro-organismos contaminantes e susceptibilidade a agentes antimicrobianos em amostras de leite de tanques de expansão. **Arquivos de Pesquisa Animal**. 2015.

ROCHA, K. L.; OLIVEIRA, A. P.; CARVALHO, J. W. P. Avaliação da qualidade do leite *in natura*, pasteurizado e esterilizado (UHT), comercializado em barra do Bugres-MT. **Enciclopédia Biosfera**. 2016.

ROSA, D. C.; TRENTIN, J. M.; PESSOA, G. A.; SILVA, C. A. M.; RUBIN, M. I. B. Qualidade do leite em amostras individuais e de tanque de vacas leiteiras. **Arquivo do Instituto Biológico**. 2012.

ROZENBERG, S.; BODY, J. J.; BRUYÈRE, O.; BERGMANN, P.; BRANDI, M. L.; COOPER, C. Effects of dairy products consumption on health: Benefits and beliefs – a commentary from the Belgian bone club and the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases. **Calcified Tissue International**. 2016.

SBAN. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. A importância do consumo de leite no atual cenário nutricional brasileiro. **Documento Técnico**. 01 de setembro de 2015.

SCHIANO, N. A.; HARWOOD, W. S.; DRAKE, M. A. A 100-year review: sensory analysis of milk. **Journal of Dairy Science**. 2017.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Cenários para o leite e derivados na Região Nordeste em 2020**. Recife: SEBRAE. 2013.

SEIXAS, F. N.; FAGNANI, R.; RIOS, E. A.; PEREIRA, J. R.; TAMANINI, R.; BELOTI, V. Comparação de métodos para detecção de fosfatase alcalina e peroxidase em leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. 2014.

SILVA, G. W. N.; OLIVEIRA, M. P.; LEITE, K. D.; OLIVEIRA, M. S.; SOUSA, B. A. A. Avaliação físico-química de leite in natura comercializado informalmente no sertão paraibano. **Revista Principia**. 2017.

SILVA, F. B. A informalidade na produção de leite no município de Itaqui-RS. 2013. 58f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Itaqui: Universidade Federal do Pampa.

SILVEIRA, M. L. R.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. **Vigilância Sanitária Debate**. 2014.

SIQUEIRA, K. B. O mercado consumidor de leite e derivados. Embrapa: **Circular Técnica 120**. Juiz de Fora. 2019.

SOVINSKI, Â. I.; CANO, F. G.; RAYMUNDO, N. K. L.; BARCELLOS, V. C.; DOS SANTOS B. L. Situação da comercialização do leite cru informal e avaliação microbiológica e físico-química no município de Cafelândia, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**. 2014.

STERGIADIS, S.; LEIFERT, S.; SEAL, C. J.; EYRE, M. D.; STEINSHAMN, H.; BUTLER, G. Improving the fatty acid profile of winter milk from housed cows with contrasting feeding regimes by oilseed supplementation. **Food Chemistry**. 2014.

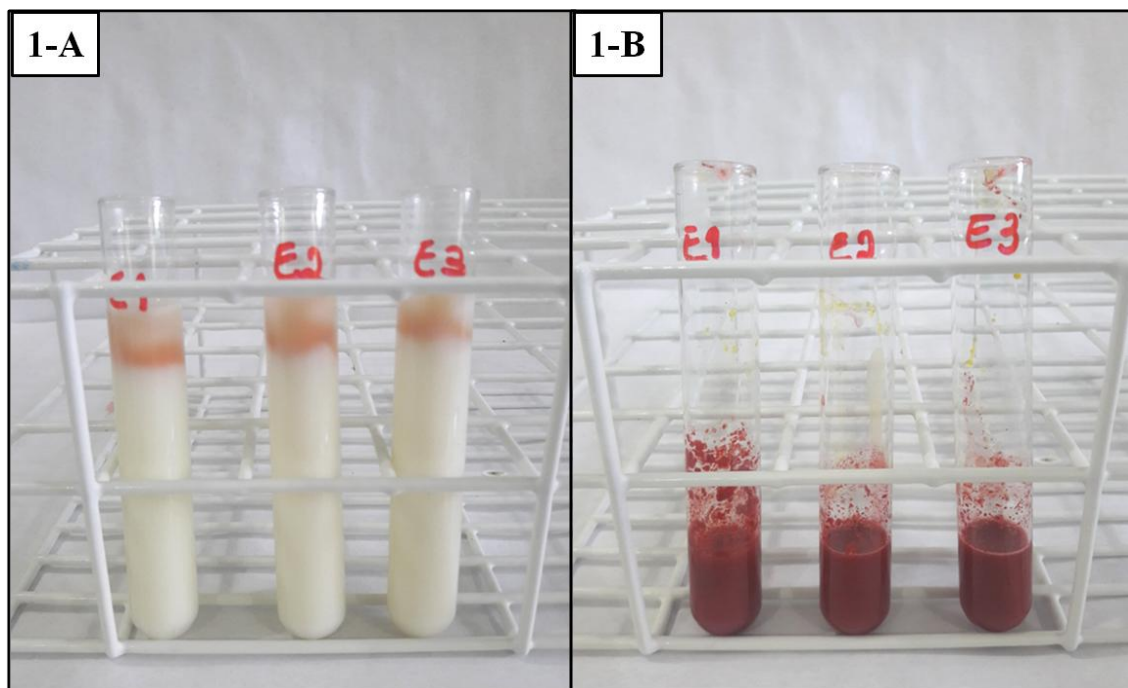
TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 4ª ed., Santa Maria. Editora da UFSM, 2010.

VILELA, D.; RESENDE, J. C.; LEITE, J. L. B.; ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**. 2017.

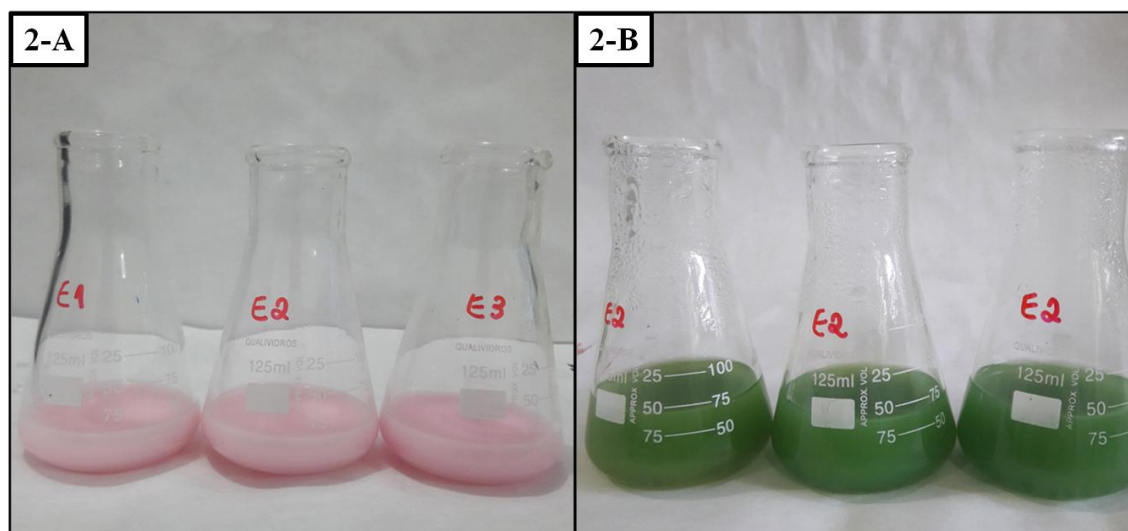
WHO. **Food borne disease: a focus for health education**. Geneva, 2000.

APÊNDICE A: Testes de: 1-A) Enzima peroxidase e 1-B) Alizarol 72%; 2-A) Acidez em ácido láctico e 2-B) Lactose anidra (Amostra E)

1-A) Enzima peroxidase, 1-B) Estabilidade ao Alizarol 72%.



2-A) Acidez em ácido láctico*. 2-B) Lactose anidra*.



*ponto de viragem das titulações.